

Aus dem Zentrum für Innere Medizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

**Der Einfluß der Blutgerinnung auf das
Verhalten der Blutfette bei der
experimentellen Verbrauchskoagulopathie
nach Thorotrast und Endotoxin**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades des Bereichs Humanmedizin
der
Justus Liebig-Universität Gießen

Vorgelegt von
Kurt Nekarda
aus Mährisch-Ostrau

Gießen 1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546402_0009

Aus dem Zentrum für Innere Medizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

**Der Einfluß der Blutgerinnung auf das
Verhalten der Blutfette bei der
experimentellen Verbrauchskoagulopathie
nach Thorotrast und Endotoxin**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades des Bereichs Humanmedizin
der
Justus Liebig-Universität Gießen

Vorgelegt von
Kurt Nekarda
aus Mährisch-Ostrau

Gießen 1974

Aus dem Archiv der Universitätsbibliothek
der Universität Leiden

Der Einfluß der Blutgerinnung auf das
Verhalten des Blutes bei der
experimentellen Lebererkrankung
nach Thrombose und Embolie



Dekan:

Prof. Dr. D. Ringleb

Betreuer der Arbeit: Prof. Dr. K. Huth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Müller-Berghaus

2. Berichterstatter: Prof. Dr. L. Róka

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I.	Einleitung und Literaturübersicht 1
1.	Experimentelles Modell des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens (SSP) 1
2.	Pathogenese des generalisierten SSP 1
3.	Definition des SSP 2
4.	Abbaumechanismen der Gerinnungszwischen- und -endprodukte 3
1.	Fibrinolyse 3
2.	RES 3
3.	Leukozyten 6
5.	Lipidstoffwechsel und Gerinnung 6
6.	Fragestellung 8
II.	Material 9
1.	Tiermaterial 9
2.	Thorotrast (TH) 9
3.	Endotoxin (ET) 9
4.	Coumarin 10
III.	Methodik 11
1.	Blutentnahme 11
1.	Technik der Blutentnahme 11
2.	Aufbereitung und Aufbewahrung der Blutproben 12
2.	Lipidanalyse 12
1.	Triglyzeride (TG) 12
2.	Veresterte Fettsäuren (VFS) 14
3.	Freie Fettsäuren (FFS) 15
4.	Cholesterinbestimmung (Chol.) 18
5.	Lipidelektrophorese 19
3.	Thromboplastinbestimmung 20
4.	Histologie 21

	Seite
5. Grundlagen der statistischen Auswertung	21
1. Varianzanalyse (VA)	21
2. F-Test	22
3. Scheffé-Test	23
4. Vorbemerkungen zur statistischen Auswertung	25
IV. Versuche	26
1. Allgemeines	26
2. Versuchsgruppe: Thorotrast-Tiere	27
1. Prinzip	27
2. Ergebnisse	27
1. Allgemeines Verhalten der Versuchstiere und Letalität	27
2. Makroskopischer Sektionsbefund	27
3. Fettstoffwechsel	27
4. Tabelle	28
3. Versuchsreihe: Endotoxin-Tiere	28
1. Prinzip	28
2. Ergebnisse	28
1. Allgemeines Verhalten der Versuchstiere und Letalität	28
2. Makroskopischer Sektionsbefund	28
3. Fettstoffwechsel	29
4. Tabelle	29
4. Vergleich: Thorotrast-Behandlung - Endotoxin-Behandlung	30
5. Tabellen der Varianzanalyse	31
6. Versuchsreihe: Thorotrast und Endotoxin	33
1. Prinzip	33
2. Ergebnisse	33
1. Allgemeines Verhalten der Versuchstiere und Letalität	33
2. Makroskopischer Sektionsbefund	34
3. Fettstoffwechsel	34
4. Tabelle	35

	Seite
7. Versuchsreihe: Marcumar, Thorotrast und Endotoxin	37
1. Prinzip	37
2. Ergebnisse	38
1. Verhalten der Versuchstiere und Letalität	38
2. Makroskopische Befunde	38
3. Fettstoffwechsel	39
4. Tabelle	39
8. Tabellen der Varianzanalyse	41
V. Diskussion	43
VI. Zusammenfassung	55
VII. Literatur	57
Dank	71
Lebenslauf	72

I. EINLEITUNG UND LITERATURÜBERSICHT

1. Experimentelles Modell des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens (SSP)

Das generalisierte SSP wird durch zweimalige i.v. Injektion von Endotoxinen (ET) gramnegativer Bakterien im Abstand von 24 Stunden beim Kaninchen ausgelöst (125). Kurz nach der ersten, auch "praeparierenden" Injektion genannt, finden sich Plättchenthromben in Lunge-, Leber- und Milzkapillaren (5, 89). Stunden später können sie durch Fibrinthromben ersetzt werden (22). Bleibt die zweite Injektion aus, überleben die Tiere den Versuch in der Regel. Wird nach 24 Stunden abermals ET injiziert, so entwickeln die Tiere eine hämorrhagische Diathese und sterben zum großen Teil im Laufe eines weiteren Tages im protrahierten Schock. Ein Teil bekommt eine Uraemie infolge Nierenversagens (91, 108). Untersucht man die Organe histologisch, so finden sich eosinophile Fibrinablagerungen in Lungen-, Leber- und Milzgefäßen, und das ist besonders typisch: verschließende Fibrinablagerungen in den Kapillaren der Glomeruli. Dieser Verschluß führt bei längerem Überleben zu eindrucksvollen beiderseitigen Nierenrindennekrosen (5, 89, 120, 125).

2. Pathogenese des generalisierten SSP

Als pathogenetisches Prinzip der Entwicklung eines generalisierten SSP ist die disseminiert ablaufende intravaskuläre Gerinnung erkannt und von zahlreichen Autoren bestätigt worden.

Beweise:

a) gerinnungsanalytische

1. Bereits Minuten nach jeder Endotoxin-Injektion fällt die Zahl der zirkulierenden Thrombozyten durch Sequestration und visköse Metamorphose in der peripheren Strombahn stark ab. Funktionelle Störungen wie Minderung des Aggregations- und Adhaesivitätsvermögen, Erhöhung der Antiheparin und Anti-

plasminaktivität, Verluste von ATP, Serotonin und Nukleotiden kommen hinzu. Plättchenfaktor 3 ist ebenfalls deutlich vermindert (60, 65, 76, 134).

2. Globale Gerinnungsmethoden wie Thrombelastogramm und Thromboplastinzeit signalisieren einen komplexen Gerinnungsdefekt (69).
3. Die Konzentrationen der einzelnen Gerinnungsfaktoren I, II, V, VII, VIII, IX und X sind in pathologische Bereiche abgestürzt (69, 74, 78).

b) morphologische

Das eosinophile Material in den Glomerulakapillaren ist in elektronenmikroskopischen Untersuchungen von BOHLE, SITTE und MILLER (22) als Fibrin mit typischer Querstreifung und einer Periodizität von etwa 200 Å identifiziert worden. MC KAY, GITLIN und CRAIG (90) bestätigten diese Ergebnisse.

c) therapeutische

Eine regelmäßige Hemmung des SSP gelingt durch Antikoagulantien (53, 119), wie

- Heparin
- Cumarinderivate, die die Lebersynthese der Vitamin K abhängigen Faktoren II, VII, IX und X hemmen;

Fibrinolytika (28, 77), wie

- Streptokinase
- Plasmin.

3. Definition des SSP

Das SSP wird demnach durch einen generalisiert ablaufenden intravasalen Gerinnungsprozeß charakterisiert, der zu fibrinreichen Praecipitaten in - je nach Spezies - verschiedenen Organen führt.

Verschließen diese eosinophilen Fibrinthromben die Glomerulakapillaren und bleiben sie lange genug bestehen, so kommt es zum Vollbild des SSP mit doppelseitigen Nierenrindennekrosen.

4. Abbaumechanismen der Gerinnungszwischen- und -endprodukte

Bei der Thrombenbildung und Praecipitation kommt eine große Bedeutung den Abbaumechanismen der Gerinnungsprodukte zu: Fibrinolyse, RES und Leukozyten.

4.1. Fibrinolyse

BELLER und GRAEF (17) demonstrierten die intravitale Auflösbarkeit der Fibringerinnsel. In Kaninchennieren, die sie anschließend an eine 14-stündige ET-Infusion entfernten, fanden sie fibrinhaltiges Material, aber nicht in der jeweils zweiten Niere, wenn sie 34 Stunden später entfernt wurde. GAGEL et al (47) wiesen eine Verbrauchskoagulopathie bei Hühnern nach, die sie vorher mit dem Geflügelpestvirus infiziert hatten. Dabei ließ sich Fibrin nur im Kamm der Tiere nachweisen. Wurden sie jedoch mit dem Fibrinolyseinhibitor Epsilonaminocaprinsäure behandelt, so konnte man Fibrin in Milz, Leber, Lunge und massiv im Kamm finden. Aus diesen Befunden muß man schließen, daß bei einer Verbrauchsreaktion nicht nur die intravasale Gerinnung sondern auch das fibrinolytische System aktiviert wird.

4.2. RES

Setzt man gesunde, nicht vorbehandelte Ratten, Kaninchen, Hunde oder Mäuse experimentellen Traumen oder verschiedenen Schockformen aus, entwickeln sie eine frühe, tiefgreifende Schwächung der phagozytären Funktion des RES (109, 138), die manchmal von einer gesteigerten retikuloendothelialen Funktion gefolgt wird. Aufgrund von Schockimmunität und Kreuztoleranz vermuten einige Autoren, daß das RES einen gemeinsamen Weg in der Pathogenese verschiedener Schockformen darstellt (3, 99, 138). Welcher Art diese Beteiligung ist, ist jedoch im einzelnen noch offen.

BEESON (14) brachte erstmals das RES mit dem SSP in Zusammenhang, als er bei resistenten Ratten mit Thorotrast und Trypanblau ein lokales SSP auslösen konnte. GOOD und THOMAS (52) erkannten, daß diese beiden Agentien – wie auch Cortison – Kaninchen so

präparieren, daß eine einzige ET-Injektion ausreicht, um ein generalisiertes SSP auszulösen. Da die ein SSP präparierenden Substanzen mit Ausnahme der Gravidität mit den RES blockierenden Substanzen identisch sind, nahm man an, daß eine RES-Blockade die Klärung und Inaktivierung des ET verhindert (31, 91, 126).

Andererseits konnte FISHER (45) nachweisen, daß nach vorbereitender Injektion verschiedenster RES-Blocker, die anschließende Aufnahme J^{131} markierten ET durch das reticuloendotheliale System stets erhöht war. Die sogenannten RES-Blocker führten also nicht zu einer verminderten, sondern erhöhten ET-Aufnahme in Leber und Milz.

Über die Phagozytosefähigkeit des RES hält man eine Beteiligung des retico-endotheliale System an der Ausbildung des SSP für möglich (94). LEE (81) konnte experimentell nachweisen, daß RE-Zellen in der Lage sind, Fibrinogenaggregate aus dem Blut zu fangen. Ein ähnliches Ergebnis erzielte SPAET für Thromboplastin (121). Aus diesen und weiteren Befunden von DEYKIN (37), LASCH und RÔKA (75) muß man schließen, daß das RES dank seiner Phagozytosefähigkeit für Ausgangssubstrate und Reaktionsprodukte des Hämostasemechanismus ein Kontrolleur der intravasalen Gerinnung ist.

Die Untersuchungen einer Reihe anderer Autoren zeigten, daß die phagozytäre Aktivität des RES per se nicht mit der Wirtsempfindlichkeit für ET korreliert. So gelang es nicht, TH als SSP-präparierende Substanz durch die RES-Blocker Glykogen oder Stärke zu ersetzen (52). Eine Stimulation des RES - in der Regel mit Hilfe der Clearance für Kohlepartikel bestimmt - vermag sogar die ET-Sensibilität heraufzusetzen (124). VAN AKEN und VREKEN (1, 2) ziehen sogar einen direkten Effekt der sogenannten RES-Blocker auf die Zellen des RES in Zweifel. Sie fanden nach Kohleinjektionen zirkulierende Kohle-Plättchenaggregate im Blut. Die anschließende

Bestimmung der Kohleclearance durch das RES ließ sich durch Thrombozytentransfusionen und Epsilonaminokapronsäure deutlich erhöhen, während sie durch Streptokinase – die in vitro Plättchen-Kohleaggregate desaggregiert – gesenkt wurde. Die Autoren führten daher die alterierte Clearancefunktion des RES auf einen Abfall der Thrombozytenzahl, ihre Funktionsminderung oder eine gestörte Fibrinolyse zurück, nachdem direkte Effekte der RES-Blocker auf die reticuloendothelialen Zellen nicht nachgewiesen wurden.

KLUGE und HOVIG (70), die an Ratten die ultrastrukturelle Lokalisation des TH nach intraperitonealer Gabe von 2 cm^3 untersuchten, beobachteten, daß die TH-Aufnahme in verschiedenen Geweben und Zellen des RES nach einem bestimmten Muster erfolgt. Initial werden die Partikel in zytoplasmatischen Vakuolen sog. Heterophagosomen aufgenommen. Nach 24 Stunden sind die meisten Partikel von elektronendichten, zytoplasmatischen Körpern verschiedener Morphologie wie microbodies, peribiliäre Körper und residual bodies, sog. Phagolysosomen oder sekundären Lysosomen aufgenommen. Auch Zwischenstufen und enge Nachbarschaft zum endoplasmatischen Retikulum und den Mitochondrien kommen vor. Die Autoren vermuten daher eine Zusammenarbeit der zytoplasmatischen Organellen, die nach BRUNI und PORTER (25) auch in normalen Rattenlebern stattfinden soll. Lokalisationsbestimmungen lysosomaler Enzyme und von Leberzellveränderungen nach einmaliger ET-Dosis weisen auf die Ähnlichkeit der Physiologie der Kupffer'schen Sternzellen und Leberparenchymzellen hin (46, 63). ASHWORTH (7) Beobachtung, daß Lipide in Lysosomen inkorporiert werden, während Proteine in zytoplasmatischen Vakuolen accumulieren, deutet zusammen mit den o.g. Befunden darauf hin, daß die Fettstoffwechselveränderungen nach TH-Gabe eventuell auch auf eine Alteration des Leberstoffwechsels zurückzuführen sein können.

4.3. Leukozyten

Eine weitere Möglichkeit, intravasale Gerinnungsprodukte zu entfernen, findet sich in den Granulozyten. Sie sind in der Lage unlösliches Fibrin und Fibrinogen (10) zu phagozytieren und mittels Freisetzung proteolytischer Enzyme (19) die Fibrinolyse zu aktivieren.

5. Lipidstoffwechsel und Gerinnung

Nachdem das pathogenetische Prinzip des SSP erkannt und bewiesen ist, bleiben noch die Fragen:

- a) nach dem Steuerungssystem der Hämostase z.B. der Bedeutung der Zirkulationsgeschwindigkeit des Blutes,
 - b) nach dem Auslösungsmechanismus
- offen, der die fein ausbalancierte intravasale Gerinnung in eine hyperkoagule Phase drängt, die in Mikrothrombosierung, hämorrhagischer Diathese und Gewebse Nekrosen enden kann.

Bei der Beantwortung dieser Fragen sollte man die regelmäßig zu beobachtenden Stoffwechselveränderungen nicht außer Acht lassen. Dazu gehören die katabolen Veränderungen des Lipidmetabolismus.

HUTH (66) und HIRSCH (61) beobachteten bereits 12 Stunden nach der ET-Injektion FFS-Anstiege auf das Mehrfache des Ausgangswertes und 24 Stunden nach der zweiten Injektion das Maximum einer Hyperlipidämie, die vor allem mit einer TG-, VFS- und weniger mit einer Chol.- und Phosphatidvermehrung einhergeht. Elektrophoretisch äußerten sich die Lipidveränderungen in einer kontinuierlichen Zunahme der Betalipoproteine und des sog. Neutralfettrestes ("very low density LP") und in einer Abnahme der α -LP (68).

Frühe morphologische Hinweise für einen Zusammenhang zwischen SSP und Fettstoffwechsel stammen von SANARELLI (103) selbst. Er fand feinkörnige "fettige Nekrosen" im Darm und Nieren besonders bei Tieren, die erst sechs Stunden nach der zweiten

Injektion starben. APITZ (5) beobachtete bereits nach einmaliger Coli-Filtrat-Gabe Verfettungen der Kupffer'schen Sternzellen, der Hepatozyten und der Herzmuskulatur. BOOTH (23) wies histochemisch im Bereich der Gefäßläsionen u.a. Neutralfette, FFS, Cholesterinester und Phosphatide nach. Elektronenmikroskopisch sah BOHLE beim SSP (21) in den Thromben der Glomerulakapillaren Vakuolen, die er als Fetttröpfchen auffaßte.

Auch Serumlipideffekte auf die Gerinnung sind bekannt. So sollen nach SEEGER (117) Phosphatide als sog. "lipoider Faktor" die Reaktion von Prothrombin zu Thrombin beschleunigen. Langkettige FFS verkürzen die Gerinnungszeit und führen zur Aggregation gewaschener menschlicher Thrombozyten (29). Dies gelingt auch, wenn sie aus endogenen Fettdepots mobilisiert werden. Weiterhin vermögen Chylomikronen, Lipoproteine niederer Dichte, Phosphatide (100) und gesättigte FFS (73) die Fibrinolyse zu hemmen. Fettstoffwechselveränderungen und Gerinnungsstörungen sind offensichtlich in der Lage, sich in Art eines circulus vitiosus gegenseitig zu beeinflussen. So kommt es bei kombinierter Applikation einer nicht letalen Endotoxindosis zusammen mit einer Fett-emulsion (10 %-iges Lipofundin in einer Dosierung von 2 g Fett/kg Körpergewicht innerhalb 2 Stunden nach der ET-Gabe infundiert) bei Kaninchen zum Tode der Versuchstiere unter den Zeichen einer schweren Verbrauchskoagulopathie (67).

P. GIAROLA et al (50) beobachteten nach einer fettreichen Mahlzeit im Tierexperiment eine postprandiale Hyperlipidämie und eine Hyperkoagulabilität mit Aktivitätsminderung der Fibrinolyse. Mit den Antilipolyticum β -Pyridylcarbinol reduzierten sie nicht nur die Lipidfraktion der Gesamtlipide, TG und des Cholesterins, sondern normalisierten auch die Gerinnungswerte (TEG, Recalcifikations- und Prothrombinzeit und fibrinolytische Aktivität). Signifikante Änderungen der Plättchenaggregation beobachteten sie jedoch nicht.

Aber auch zahlreiche klinische Befunde weisen auf Zusammenhänge zwischen Fettstoffwechsel und Gerinnung hin. So ist statistisch hinreichend gesichert, daß fettreiche Ernährung Morbidität und Mortalität an thrombembolischen Erkrankungen und Myocardinfarkt (87) erhöht. Herzinfarktpatienten weisen oft Serumlipidveränderungen auf, die ähnlich wie bei der Verbrauchsreaktion des Kaninchens mit einem hohen FFS-Spiegel, TG und β -LP-Erhöhung einhergehen (17). Unmittelbar nach einem frischen Herzinfarkt kann es zu einem Anstieg der FFS und im weiteren Verlauf zu einer Zunahme der TG kommen (66).

6. Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit wird tierexperimentell folgenden Fragen nachgegangen:

1. Welchen Einfluß haben Einzelgaben von Thorotrast bzw. Endotoxin auf den Lipidstoffwechsel?
2. Führt eine kombinierte Injektion von Thorotrast und Endotoxin, als Modell zur Auslösung eines SSP des Kaninchens, zu einer Hyperlipidämie?
3. Gelingt es, die Auslösung einer sekundären Hyperlipidämie durch Hemmung der Verbrauchskoagulopathie mittels Marcumar zu verhindern, d.h. ist das Lipidmobilisations-Syndrom nach Auslösung eines SSP eine direkte Folge der Gerinnungsstörung oder anderer Pathomechanismen?

II. MATERIAL

1. Tiermaterial

Die Versuche werden an nicht trächtigen Kaninchen beiderlei Geschlechts mit einem durchschnittlichen Gewicht von 1,9 kg durchgeführt. Die Tiere erhalten "SSniff"-K, ein Spezialtrockenfutter der Intermast GmbH, Bochum-Hövel. Futter und Trinkwasser werden den Kaninchen ad libitum angeboten.

2. Thorotrast (TH)

Bei dem verwendeten TH handelt es sich um eine sterile, gefilterte, hochdisperse Lösung von 24 - 26 % Thoriumdioxid in Dextrin und Methylparaben, der Fa. Fellows Testagar, Detroit, Michigan, USA. Sie wurde i.v. in einer Dosis von 3 ml/kg verabreicht.

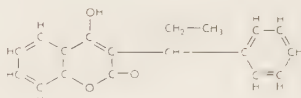
Während über die TH induzierte Blockierung des RES und der Immunantwort eine Fülle von Literatur existiert und Beispiele der protrahierten cancerogenen Wirkung des TH noch immer publiziert werden, ist uns nur eine Arbeit über Lipidstoffwechselstörungen und Thorotrast bekannt (80). In ihr wird über eine transitorische Hyperlipidämie (Gesamtfettsäuren, Phosphorlipide, freies Cholesterin, Gesamtcholesterin) und atherosklerotische Läsionen nach wiederholter Thorotrast-Applikation berichtet. Diese Veränderungen konnten die Autoren jedoch mit dem auch von uns benutzten Thorotrast nur in einem von sechs Fällen reproduzieren.

3. Endotoxin (ET)

Benutzt wurde ein Escherichia coli Endotoxin, 055:B₅, Lipopolysaccharid B der Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA. Wir verwendeten es in einer Konzentration von 20 µ/ml isotoner Kochsalzlösung.

4. Coumarin

Die Gerinnung wird mit dem langwirkenden Phenprocoumon (Marcumar[®]) der Fa. Hoffmann-La Roche AG, Grenzach, Baden gehemmt. Es enthält als Wirkstoff, in 1 ml destilliertem Wasser gelöst, 10 mg 3-(1'-Phenyl-propyl)-4-hydroxy-coumarin.



Durch kompetitive Verdrängung des Vitamins K hemmt es in der Leber die Synthese der plasmatischen Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X. Die Wirkung tritt bei i.v. Gabe nach 24 - 36 Stunden ein und verschwindet nach 7 - 14 Tagen, was durch die lange Halbwertszeit dieser Gerinnungsfaktoren zu erklären ist. In den vorliegenden Experimenten erstreckt sich die Vorbehandlung über 4 Tage, wobei nach einem Schema täglich 20 - 10 - 10 - 10 mg Marcumar[®] injiziert werden. Ist die Thromboplastinzeit am 5. Tag, dem eigentlichen Versuchstag, um mehr als 53 sec. verlängert (Mittel: 87 sec.; normal $11,8 \pm 0,4$ sec.) und damit im therapeutischen Bereich von 5 % der Norm, so kommt das Tier in die Versuchsreihe, in der es täglich weiter 10 mg Marcumar[®] erhält. Coumarinresistente Tiere werden von den Experimenten ausgeschlossen.

Direkte Effekte der Marcumarisierung auf den Lipidmetabolismus sind uns nach der vorliegenden Literatur nicht bekannt.

III. METHODIK

1. Blutentnahme

1.1. Technik der Blutentnahme

Nach der Methode von RODRIGUEZ-ERDMAN (103) wird einen Tag vor Versuchsbeginn über die rechte Ohrvene ein Katheter in den Bereich des rechten Herzvorhofs geschoben.

Nach Infiltration der Haut und Unterhaut der rechten Ohrwurzel mit 1 %igem Novocain wird die Mittelvene freigelegt. Es wird so präpariert, daß das Gefäß auf der Unterseite mit dem Gewebe verbunden bleibt. Proximal wird die Vene mit einer kleinen Klemme gestaut und distal durch eine Ligatur abgebunden. Das prall gestaute Gefäß wird mit einem kleinen Querschnitt geöffnet und mit der Spitze einer großkalibrigen Kanüle offen gehalten, bis der mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllte Polyvinylchloridkatheter (0,5 x 1 mm) in ihm liegt. Dieser wird dann bis zum Herzen oder darüber hinaus bis in die Vena cava caudalis vorgeschoben. Das Blut wird mittels einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Die Wunde wird durch Naht verschlossen und der Katheter zugeschweißt, da aufsteigendes Blut leicht zur Thrombosierung und Verstopfung führen kann. Dann wird der Katheter aufgewickelt und mit Heftpflaster am Ohr fixiert. Die rechte Mittelohrvene kann auch durch die Ohrtrandvene oder die Vene des linken Ohres ersetzt werden, jedoch ergeben sich links wegen der recht winkligen Einmündung der v. brachiocephalica sin. in den rechten Herzvorhof häufiger Schwierigkeiten.

Dieser Eingriff belastet die Tiere nicht merklich, vermeidet häufige Venenpunktionen und vor allem eine mögliche Streßhyperlipidämie der Tiere.

1.2. Aufbereitung und Aufbewahrung der Blutproben

Es werden etwa 7 ml Blut, ohne eine Hämolyse zu verursachen, vorsichtig abgesaugt, mit 0,15 ml 5 %igem EDTA ungerinnbar gemacht und bei 2.500 U/min zentrifugiert. Das überstehende Plasma wird mit einer Spritze abgehoben und in getrennten Portionen sofort bei -22°C bis zum Auftauen für die Lipidbestimmungen eingefroren.

Zur Thromboplastinbestimmung werden getrennt 2,5 ml Citratplasma in silikonisierten Röhrchen gewonnen.

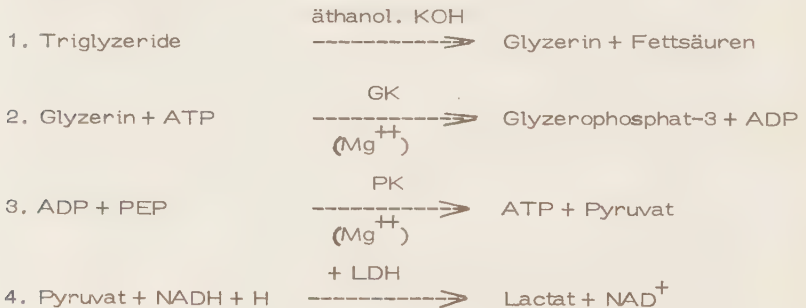
2. Lipidanalyse

2.1. Triglyzeride

Bestimmung nach SCHMIDT und DAHL (111)

Prinzip

Die Bestimmung der Triglyzeride führt über die Hydrolyse der Neutralfette zur quantitativen Freisetzung von Glycerin, das enzymatisch gemessen wird. Die Bestimmung basiert auf folgenden Reaktionen:



Abkürzungen:

GK	=	Glyzerokinase
PK	=	Pyruvatkinase
LDH	=	Lactatdehydrogenase
ATP	=	Adenosintriphosphat
ADP	=	Adenosindiphosphat
PEP	=	Phosphoenolpyruvat

Mit der Phosphorylierung von Glycerin zu Glycerophosphat geht die Oxydation äquimolarer Mengen $\text{NADH} + \text{H}^+$ zu NAD^+ einher. Dies ist direkt meßbar, denn da $\text{NADH} + \text{H}^+$ im Gegensatz zu NAD^+ eine Absorptionsbande bei 366 nm besitzt, können wir die Umwandlung von Glycerin direkt registrieren.

Reagenzien und Apparatur

a) Lösungen für die Verseifung

1. 0,5 n äthanolische, glyzerinfreie KOH
(47 % KOH Merck 5545 mit Äthanol p.a. aufgelöst)

2. 0,1 m- MgSO_4

Es werden Mikroreaktionsgefäße, Mikropipetten Marburg, Mikrozentrifuge, Rüttler, Thermostat und Photometer Eppendorf mit Kompensationsschreiber (Filter: 366 nm, Schlitz 2,5 x 12 mm) und Makroküvetten ($d = 1$ cm) benötigt.

b) Lösungen für den optischen Test

1. Arbeitslösung I

(Triäthanolamin-Puffer 0,15 m ; pH 7,6)

2,62 g TRA-HCL und 0,035 g MgSO_4 werden in 50 ml H_2O gelöst, mit n-NaOH auf pH 7,6 eingestellt, auf 100 ml aufgefüllt und darin 0,03 g NADH gelöst.

2. Arbeitslösung II

0,04 g PEP-Na und 0,03 g $\text{ATP-Na}_2\text{H}_2$ werden in 10 ml TRA-Puffer (0,1 m) pH 7,6 gelöst.

3. LDH (5 mg/ml) und (PK 2 mg/ml) werden gemischt.

4. GK (1 mg/ml).

Durchführung

a) Hydrolyse

In verschließbare Mikroreaktionsgefäße pipettiert man 0,1 ml Serum und 0,25 ml frisch angesetztes KOH. Nachdem man die Lösungen im Rüttler 1 min schütteln ließ, erhitzt man sie im Thermostat für 90 min auf 56°C . Nach Abkühlung setzt man

0,75 ml einer 0,1 m-MgSO₄ Lösung hinzu, läßt wiederum schütteln und zentrifugiert nach Abkühlung 4 min bei 16.000 U/min. Den Überstand gießt man in neue Mikroreaktionsgefäße und schließt sofort oder am nächsten Tage den optischen Test an.

b) Optischer Test

In eine Makroküvette pipettiert man 1,5 ml Arbeitslösung I, 0,1 ml Arbeitslösung II, 0,2 ml Überstand und 0,02 ml von dem LDH/PK-Gemisch, rührt durch und liest die Extinktion nach 10 min ab. Steht die Reaktion, setzt man 0,02 ml der Glyzerokinase hinzu und liest wiederum nach 10 min ab.

Das ΔE der GK entspricht dem Glyzeringehalt. Es wird je ein Leerwert, der in die Berechnung eingeht und ein Sammelserum zur Kontrolle mitbestimmt.

Auswertung

Während der Reaktionszeit wird ΔE grafisch registriert und auf den "Leerschleib" vor der Reaktion extrapoliert. Dieses korrigierte ΔE multipliziert mit einer Konstanten ergibt die Triglyzeride. In die Konstante gehen nach folgender Gleichung ein:

$$TG \text{ (mg/100 ml)} = \frac{\Delta E \text{ kor.} \times MG \times K\ddot{u}v.Vol \times Verd. \times 100}{Extinktskoeff. \times \ddot{U}berstand \times Serummenge \times 1000}$$

2.2. Veresterte Fettsäuren

Methode nach SCHÖN und ZELLER (113)

Prinzip

Mit Isopropylalkohol werden die Fettsäureester extrahiert und in alkalischer Lösung mit Hydroxylamin quantitativ in Hydroxylaminsäuren umgesetzt. Die gewonnene Säure ergibt mit Eisen (III) Ionen eine rotbraune Farbe. Ihre Farbintensität ist der Anzahl der Esterbindungen direkt proportional und wird kolorimetrisch gegen einen Trioleinstandard bestimmt.

Reagenzien und Apparatur

- I. Eppendorf-Photometer (Filter: 546 nm, Schlitz 7 x 12 nm, Küvette d = 1 cm)
- II. Hydroxylaminhydrochlorid)
- III. Eisen-(III) chlorid) Testpackung der
- IV. Trioleinstandard (50 mg%)) Fa. Haury München
- V. Natronlauge 10 %
- VI. Isopropylalkohol wasserfrei
- VII. HCL 3,8 n
- VIII. Aether

Durchführung

Zuerst werden 1,9 ml Isopropylalkohol zu 0,1 ml Serum pipettiert, gemischt und 10 min. stehengelassen. Anschließend wird die Lösung 10 min. bei 2.500 U/min zentrifugiert. 1,0 ml des Überstands werden mit 0,5 ml 10 % NaOH und 0,5 ml Hydroxylamin versetzt. Nach erneutem Mischen und 30 min. Wartezeit gibt man 0,5 ml 3,8 n-HCL, 0,5 ml Eisen-(III)chlorid und 0,5 ml Aether hinzu. Die neue Lösung wird gut gemischt und nach 20 min. gegen die des Leerwertes bestimmt, der statt des Zentrifugats 1,0 ml Isopropylalkohol enthält.

Berechnung:
$$\frac{\Delta E_{\text{Analyse}}}{\Delta E_{\text{Standard}}} \times 1.000 = \text{VFS (mg\%)}$$

2.3. Freie Fettsäuren (FFS)

Bestimmung nach der Methode von DOLE und MEINERTZ (41)

Prinzip

Die im Plasma an Albumin gebundenen unveresterten Fettsäuren werden in der ersten Phase, bestehend aus einem Gemisch aus Isopropanol und n-Heptan freigesetzt. Durch Zugabe von Heptan und Aqua dest. bildet sich eine zweite Phase unpolaren Charakters über der polaren alkoholisch-wässrigen Phase. Die FFS gelangen in die obere Heptanphase, die abpipettiert und deren Konzentration

an FFS mit Natronlauge titrimetrisch bestimmt wird. Alle anderen Säuren bleiben in der unteren polaren Phase und gelangen zu weniger als 2 % in die unpolare organische Heptanphase.

Reagenzien und Apparatur

I. Extraktionslösung

40 Teile Isopropylalkohol p.a., 10 Teile n-Heptan und
1 Teil $n\text{-H}_2\text{SO}_4$

II. Indikatorlösung

Stammlösung: 0,02 %iges wässriges Nilblau, das mit dem Schütteltrichter 6 - 8 mal in Hexan gewaschen wird. Zum Gebrauch wird ein Teil der Stammlösung auf 10 Teile mit 96 %igem Äthanol p.a. aufgefüllt.

III. Titrationslösung

0,02 n-NaOH, das mit Aqua bidest., das durch Kochen CO_2 frei gemacht wurde, hergestellt wird.

IV. Standard

Stamm: 284,5 mg Stearinsäure (Fluka AG) werden in 80 ml Isopropanol p.a. und 20 ml n-Heptan gelöst. 2,5 ml der 0,01 n-Stammlösung werden zum Gebrauch auf 50 ml mit Extraktionslösung aufgefüllt, die dann 500 $\mu\text{val/l}$ FFS enthält.

V. "Agla" Ganzglasmikrometerspritze (Burroughs Wellcome)

VI. Mikrometerschraube (SHARDLOW, SHEFFIELD)

Durchführung

	Analyse	Leerwert	Standard
Extraktionslösung	5,0	5,0	4,0
Serum	1,0	-	-
Standardlösung	-	-	1,0
n-Heptan	3,0	3,0	3,0
CO_2 freies Wasser	2,0	3,0	3,0
(alle Angaben in ml)			

In 15 ml Schliffzentrifugengläser mit Stopfen pipettiert man Extraktionslösung und tropfenweise Serum bzw. Standardlösung. Nach kräftigem Schütteln läßt man die Lösungen 30 min stehen. In der Zwischenzeit pipettiert man 1,0 ml Indikatorlösung in 10 ml Zentrifugengläser. Zur Phasentrennung setzt man der Extraktionslösung Heptan und CO_2 freies Wasser zu und schüttelt kräftig 5 min auf der Schüttelmaschine. Nach Absetzen der beiden Phasen werden 3,0 ml der oberen abgehoben und in die vorbereiteten Indikatorgläschen überpipettiert.

Titriert wird mit einer Mikrobürette, die aus der Kombination einer Ganzglasmikrometerspritze und einer Mikrometerschraube besteht. Zur Absorption von CO_2 und Wasserdampf wird Stickstoff über einen PVC-Schlauch durch Ätzkalk, Kalilauge und Glycerin in die Probe geleitet. Dieser Stickstoffstrom durchmischt erstens die untere blaue Indikatorphase mit der oberen klaren Heptanphase, zweitens bildet er einen Stickstoffschirm über der Probe und verhindert den Zutritt von Luft - CO_2 . Es wird so lange titriert, bis die blaue Indikatorphase in hellrosa umschlägt.

Auswertung

Die bei der Titration des Leerwertes verbrauchte Lauge - an Teilstrichen der Mikrometerschraube abzulesen - entspricht der Reagenzacidität und muß von Standard und Probewerten abgezogen werden. Die Berechnung des FFS-Gehaltes ergibt sich aus folgender Gleichung:

$$\mu\text{val/l Probe} = 500 \text{ mval/l Stand.} \times \frac{\text{Teilstr. Probe} - \text{Teilstr. Leerwert}}{\text{Teilstr. Stand.} - \text{Teilstr. Leerwert}}$$

Immer werden drei Leerwerte, zwei Standard und zwei Sammlseren bestimmt.

2.4. Cholesterinbestimmung

Das Gesamtcholesterin im Serum wird nach der Methode von D. WATSON (133) bestimmt.

Prinzip

Im Photometer wird bei 570 nm die Konzentration einer türkisfarbenen Verbindung gemessen, die dem Cholesteringehalt direkt proportional ist und aus Essigsäureanhydrid, konz. Schwefelsäure und Cholesterin entsteht.

Reagenzien und Apparatur

- I. Eppendorf-Photometer (Filter 570 nm, d = 1 cm)
- II. Biochemica Test Combination; Boehringer Mannheim
 - a) Cholesterinstandard 200 mg%
 - b) Cholesterinreagenz:
 - 0,05 m-Dimethylbenzolsulfensäuren
 - 7,0 m-Essigsäure
 - 6,5 m-Essigsäureanhydrid
- III. Konz. Schwefelsäure (95 - 97 % H_2SO_4 p.a.)

Durchführung

In trockene Reagenzgläser pipettiert man für den Leerwert 0,1 ml dest. Wasser, für den Standard 0,1 ml Cholesterinstandard, für die Proben 0,1 ml Serum und in alle 2,5 ml Cholesterinreagenz. Danach mischt man die Proben und stellt sie für 5 min in ein kühles Wasserbad. Nun setzt man 0,5 ml konz. Schwefelsäure hinzu, schüttelt kräftig und läßt sie für weitere 10 min stehen. Dann werden die Lösungen in trockene Küvetten gegossen und die Extinktionen von Standard und Proben gegen den Leerwert gemessen.

$$\text{Berechnung: } \frac{E \text{ Probe}}{E \text{ Standard}} \times 200 = \text{mg\% Cholesterin im Serum}$$

2.5. Lipidelektrophorese

Prinzip

Durch Kombination einer üblichen Papierelektrophorese zur Trennung von Serumproteinen mit einer Fettfärbung gelingt die einfache Darstellung der Serumtypoproteine nach der Methode von GROSS und WEICKER (56).

Reagenzien und Apparatur

- I. Papierelektrophoresestreifen der Fa. Schleicher und Schüll Nr. 2043 A Mgl
- II. Horizontale Elektrophorese von Dr. Bender und Dr. Holbein, Karlsruhe - München - Zürich
- III. Gleichrichter
- IV. Wasserbad
- V. Ölrot O der Chroma-Gesellschaft Schmidt und Co., Stuttgart - Untertürkheim

Durchführung

a) Ansetzen der Farblösung

0,5 Ölrot O werden mit 500 ml Äthanol p.a. und 500 ml siedendem Aqua dest. versetzt und im Wasserbad zum Kochen gebracht. Die Farbmischung läßt man abkühlen und filtriert sie, nachdem sich ein Lösungsgleichgewicht eingestellt hat.

b) Elektrophorese und Färbung

0,04 ml Serum werden gleichmäßig auf einen Papierelektrophoresestreifen aufgetragen und nach Ausspannen über die horizontale Papierelektrophorese 4 Stunden bei einer Ausgangsspannung von 160 Volt laufen gelassen. Nach Lufttrocknung werden die Streifen bei einer Temperatur von 37° C 16 - 20 Stunden gefärbt und anschließend 5 min. unter fließendem Wasser abgespült.

Auswertung

Es lassen sich drei Fraktionen unterscheiden:

1. Eine schnelle, mit den Alpha-1 Globulinen wandernde, ein Drittel der Phosphatide enthaltene Fraktion (96).
2. Eine mittlere, im Bereich der Alpha-2 und der β -Globuline gelegene an Cholesterinestern reiche Komponente (110).
3. Eine nicht wandernde, im wesentlichen aus Chylomikronen und Neutralfetten bestehende Fraktion im Gamma-Globulin-Bereich (110).

3. Thromboplastinbestimmung (12)

Prinzip

Citratplasma wird Gewebsthrombokinasen und Calcium im Überschuß zugesetzt und die Zeit vom Hinzufügen der Calcium-Thromboplastinlösung bis zur Gerinnungsbildung gestoppt. Pathologische Werte erhält man, wenn die Aktivität eines Gerinnungsfaktors vermindert ist, der im Gerinnungsprozeß nach Zugabe der Thrombokinasen einwirkt, wie die Faktoren II, V, VII, IX und X.

Reagenzien und Apparatur

- I. Citratblut (1 : 10) in silikonisiertem Zentrifugenglas
- II. Zentrifuge (3.000 UpM/10 min.)
- III. Calcium-Thromboplastin (Behring-Werke, Marburg)
- IV. Thermostat

Durchführung

Ein auf 37° C vorgewärmtes Reagenzglas wird mit 0,1 ml Citratplasma beschickt und exakt 30 sek. bei 37° C inkubiert. 0,2 ml der vorgewärmten Calcium-Thromboplastin-Lösung werden hinzugefügt, die Stoppuhr eingeschaltet und der Gerinnungsendpunkt mit der Häkchenmethode anhand der Gerinnungsbildung gestoppt.

Auswertung

Die Gerinnungszeit wird in Sekunden angegeben.

4. Histologie

Die Tiere wurden unmittelbar nach Eintritt des Spontanodes oder nach Tötung mit einer Überdosis Nembutal[®] seziiert und die Organe in gepufferter Formalinlösung fixiert. Schnitte wurden mit Hämatoxylin und Eosin bzw. mit Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin gefärbt.

5. Grundlagen der statistischen Auswertung (24, 42)

Jeder Meßwert der Serumlipide (TG, VFS, FFS, Chol.) wird durch folgende drei Faktoren beeinflusst:

A. Behandlung

- a) Thorotrast
- b) Endotoxin
- c) Thorotrast und Endotoxin
- d) Marcumar, Thorotrast und Endotoxin

B. Blutentnahmen vor Beginn der Behandlung und nach

6, 24, 30 und 48 Stunden

C. Versuchstier

(individuelle Besonderheiten).

Zur Prüfung, ob Unterschiede der Serumlipide innerhalb der einzelnen Kollektive bezüglich der Behandlung und der zeitlich verschiedenen Abnahmen wie auch zwischen den Kollektiven selbst vorliegen, wird als statistische Methode die Kombination der folgenden statistischen Verfahren angewandt.

- 1. Varianzanalyse, partiell hierarchisches Modell
- 2. F-Test
- 3. Scheffé-Test.

5.1. Varianzanalyse (VA)

Die VA ist der vorbereitende Schritt zum Prüfen einer Hypothese über die Differenzen einer Anzahl von Mittelwerten, d.h. über die klinische Relevanz der Faktoren, von denen die Meßwerte beeinflusst sind.

Die Bezeichnung partiell hierarchisches Modell erhält eine VA dadurch, daß neben definierten Bedingungen ("fixed factor") (z.B. gleiche Dosis, Blutentnahme nach konstanten Zeitabständen) auch ein "random-factor" (das aus einem großen Kollektiv zufällig ausgewählte Versuchstier) auftritt, der mit einem der "fixed factors" kombiniert auftritt. Das bedeutet, daß ein Versuchstier nur in einem Kollektiv berücksichtigt ist. Ein ET-Tier taucht nicht mehr in der Gruppe der Thorotrast-Tiere auf.

Die VA geht von der Annahme aus, daß sich die Abweichung eines Meßwertes vom wahren Wert, als den man den Gesamtmittelwert ansehen kann, additiv zusammensetzt aus Komponenten, die die unmittelbare Wirkung der einzelnen Faktoren sind, weiter aus Komponenten, die durch Zusammenspiel mehrerer Faktoren entstehen, d.h. durch "Wechselwirkungen", sowie dem Versuchsfehler als letzter Komponente. Aus mathematischen Gründen wird nicht eine einzelne Abweichung in die Komponenten zerlegt, sondern die Summe der Abweichungsquadrate (SAQ). Jeder SAQ-Komponente ist ein "Freiheitsgrad" f zugeordnet, der angibt, aus wievielen Einzelwerten sich das SAQ zusammensetzt. Der Quotient aus SAQ und f $\frac{SAQ}{f}$ ergibt das mittlere Abweichungsquadrat (MAQ). Die MAQ werden im an die VA anschließenden F-Test weiterverwendet.

5.2. F - Test

Der F-Test ist das statistische Verfahren, mit dem man die Hypothese "alle Mittelwerte sind gleich", die sogenannte "Nullhypothese" prüft.

Wenn die Nullhypothese richtig ist, so müssen alle MAQ-Komponenten, die in der VA errechnet wurden, gleich sein. Berücksichtigt man die statistische Natur des Problems - die MAQ können infolge des Versuchsfehlers von Experiment

zu Experiment leicht variieren – so wird der Quotient zweier MAQ nicht mehr exakt gleich Eins sein, aber er folgt unter der genannten Hypothese einer F-Verteilung. Die F-Verteilung ist eine theoretische Verteilung, deren Eigenschaften vollkommen bekannt sind.

Der F-Test wird so durchgeführt, daß man den F-Wert eines Faktors bzw. einer Wechselwirkung aus den MAQ der VA berechnet. Dieser F-Wert ist der Quotient aus dem zugehörigen MAQ eines Faktors oder einer Wechselwirkung und dem MAQ der nächsthöheren Wechselwirkung mit dem Randomfaktor, z.B.

$$F_B = \frac{MAQ_B}{MAQ_{BC}} \quad \text{oder} \quad F_{AD} = \frac{MAQ_{AD}}{MAQ_{ACD}}$$

Hier sind A, B und D "fixed factors", C ist der "random factor".

Die zugehörigen Freiheitsgrade sind die Freiheitsgrade der MAQ im Zähler bzw. im Nenner des Quotienten.

Man wählt nun eine Irrtumswahrscheinlichkeit (z.B. $\alpha = 1\%$) und vergleicht den errechneten Wert mit der F-Tabelle. Ist der errechnete F-Wert größer als die zulässige Signifikanzschranke (der Tabellen F-Wert), so muß die Nullhypothese abgelehnt werden, d.h. mindestens einer der Mittelwerte weicht vom Gesamtmittelwert ab. Andernfalls wird die Nullhypothese angenommen.

5.3. Scheffé-Test

Während der F-Test nur Aussagen liefert über Annahme bzw. Ablehnung der Nullhypothese, dient der Scheffé-Test dazu, diejenigen Mittelwerte zu finden, die von den anderen abweichen, d.h. die Signifikanz von einzelnen Mittelwertsdifferenzen wird getestet. Allgemein formuliert: der Scheffé-Test dient zum Testen von "linearen Kontrasten", das sind Mittelwertskombinationen. Der einfachste lineare Kontrast ist eine Mittelwerts-

differenz. Es läßt sich aber auch die Parallelität von Kurven prüfen.

Für jeden linearen Kontrast wird ein "Konfidenzintervall" berechnet, das ist der Bereich, innerhalb dessen man den Wert eines Kontrastes erwarten kann.

Das Konfidenzintervall hat die Länge $2 s\sigma_L$, wobei

$$s^2 = (k-1) F_{1-\alpha; k-1, f}$$

$$\text{und } \sigma_L^2 = \text{MAQ}_{\text{Nenner}} \cdot \sum \frac{c_j^2}{r_j}$$

ist,

Erklärung:

- $\text{MAQ}_{\text{Nenner}}$ = MAQ, das im zugehörigen F-Test im Nenner steht
- c_j = Faktor des j-ten Mittelwertes im linearen Kontrast (+1 oder -1 bei einer MW-Differenz)
- r_j = Anzahl der Meßwerte, aus denen der j-te MW des Kontrastes errechnet wurde
- $k-1$ = Freiheitsgrad des $\text{MAQ}_{\text{Zähler}}$ im zugehörigen F-Test
- f = Freiheitsgrad des $\text{MAQ}_{\text{Nenner}}$ im zugehörigen F-Test
- α = vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit

Man vergleicht den absoluten Betrag L des linearen Kontrastes mit dem Produkt $s\sigma_L$. Ist $L > s\sigma_L$, so muß die Nullhypothese des Scheffé-Testes (z.B. Gleichheit zweier Mittelwerte; TG der Tiere, die mit ET allein behandelt wurden, sind gleich den TG der mit Thorotrast und ET behandelten Tiere) abgelehnt werden. Ist $L \leq s\sigma_L$ wird die Nullhypothese angenommen.

5.4. Vorbemerkungen zur statistischen Auswertung

Statistisch ausgewertet werden vier unterschiedlich behandelte Gruppen von Tieren:

- | | |
|--|---------------|
| 1. Thorotrast-Reihe | Kontrollreihe |
| 2. Endotoxinreihe | Kontrollreihe |
| 3. Thorotrast-Endotoxin-Reihe | Testreihe |
| 4. Marcumar-Thorotrast-Endotoxin-Reihe | Therapiereihe |
- nach jeweils vier Parametern (TG, VFS, FFS und Chol.).

Zur Erzielung einer Normalverteilung mit homogenen Varianzen sind die Normalwerte in der folgenden Varianzanalyse mit dem natürlichen Logarithmus transformiert.

Varianzanalyse und F-Test sind zusammengefaßt.

Es wird, wie bei biologischen Reihen notwendig, eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 1\%$ vorgegeben. Dann lassen sich die F-Werte der Tabelle wie folgt beurteilen.

IV. VERSUCHE

1. Allgemeines

Bei den vorliegenden Untersuchungen erhalten die Kaninchen einen Tag vor Versuchsbeginn einen Katheter über die rechte Ohrvene in die Vena cava bzw. den rechten Vorhof gelegt.

Der Nullwert wird unmittelbar vor Versuchsbeginn abgenommen.

Die Blutentnahme erfolgt bei den Kontrollreihen nach 0,6,24, 30 und 48 Stunden, bei der Testreihe anfangs nach 0, 2, 4, 6, 10, 24, 30 und 48 Stunden. Später ab Tier Nr. 26 werden die Abnahmen auf die 0, 24 und 48 Stundenwerte begrenzt, um die zahlreichen Blutentnahmen als eine der möglichen Ursachen für die hohe Letalität auszuschließen. In der Therapiereihe wird von Anfang an nur nach 0, 24 und 48 Stunden Blut entnommen.

Bis zur ET-Gabe nach 4 Stunden bleiben die Tiere in einem Kasten, in dem der Kopf weitgehend fixiert ist. Danach werden die Tiere wieder in ihren Stall gesetzt und kommen nur zu den weiteren Blutentnahmen zurück in den Spezialkasten.

Nach der letzten Blutentnahme werden die Kaninchen mit Nembutal[®] oder Megaphen[®] getötet und anschließend seziiert. Dabei werden Herz und Lunge, Leber, Milz und Niere, Magen-darmtrakt und Nebennieren makroskopisch beurteilt und zur histologischen Untersuchung in neutraler Formalinlösung fixiert.

Folgende Versuchsgruppen werden gebildet:

- I. Gruppe: Thorotrast 3 ml/kg
- II. Gruppe: Endotoxin 20 µg/Tier
- III. Gruppe: Thorotrast 3 ml/kg und Endotoxin 20 µg/Tier
- IV. Gruppe: Marcumar, Thorotrast und Endotoxin in o.g. Dosen

2.

I. Versuchsgruppe: Thorotrast-Tiere

2.1. Prinzip

Zur Kontrolle wird acht Kaninchen mit einem durchschnittlichen KG von 1,8 kg eine Menge von 3 ml Thorotrast/kg intravenös appliziert.

2.2. Ergebnisse

2.2.1. Allgemeines Verhalten der Versuchstiere und Letalität

Alle Tiere nehmen kurz nach der Injektion wieder Nahrung auf und verhalten sich bis zur Einschläferung völlig unauffällig.

2.2.2. Makroskopischer Sektionsbefund

Fünf Tiere weisen eine leicht vergrößerte und deutlich gefäß-injizierte Milz auf, zwei haben eine vergrößerte Leber. Zwei andere Kaninchen zeigen wenige hämorrhagische Lungeninfiltrate, eines petechiale Lungenblutungen, ein anderes eine epicardiale Blutung über dem linken Ventrikel.

2.2.3. Fettstoffwechsel

Die Serumlipide bleiben nach 3 ml Thorotrast/kg Körpergewicht bis auf Cholesterin im Normbereich, zeigen aber doch deutliche Tendenzen. So klettern die TG- und VFS-Konzentrationen nach einem anfänglichen 6-Stunden-Abfall ständig und erreichen nach 48 Stunden fast das Doppelte ihres Ausgangswertes. Die FFS durchlaufen ein Tal, dessen Scheitel nach 24 Stunden im Mittel um $133 \mu\text{val/l}$ tiefer als der Ausgangswert liegt.

Die Cholesterinkonzentration fällt anfangs um 10 mg% ab, steigt dann aber auf einen 24-Stunden-Wert an, der signifikant über dem Ausgangsniveau liegt (F-Wert: 18,94; Tabellenwert 3,80).

2.2.4. TABELLE

Mittelwerte der Einzelwerte von TG, VFS, FFS und Chol.
nach 3 ml TH/Tier

p-max = Signifikanz der maximalen zeitlichen Differenz

n.s. = eine Signifikanz läßt sich nicht errechnen

n = Anzahl der Tiere

	n	TG mg%	VFS mg%	FFS μ val/l	CHOL mg%
0 h	7	131	188	329	66
6 h	7	128	179	211	56
24 h	7	172	253	196	93
30 h	7	175	264	210	77
48 h	7	206	283	220	71
p-max		n.s.	n.s.	n.s.	0,01

3. II. Versuchsreihe: Endotoxin-Tiere

3.1. Prinzip

Sechs Kaninchen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 2,1 kg erhalten als weitere Kontrolle eine einmalige Injektion von 20 μ g Endotoxin über den Ohrvenenkatheter.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Allgemeines Verhalten der Versuchstiere und Letalität

Alle sechs Tiere koteten innerhalb der ersten sechs Stunden ein und fraßen kaum. Sonst blieben sie unauffällig.

3.2.2. Makroskopischer Sektionsbefund

Es konnten makroskopisch keine pathologischen Befunde festgestellt werden.

3.2.3. Fettstoffwechsel

Es fällt auf, daß die Konzentration von TG und VFS im Serum trotz eines geringfügigen Abfalles der 6- und 30-Stunden-Werte stetig auf einen signifikanten 48-Stunden-Wert klettern (F-Wert: 18,20/18,23; Tabellen-Wert: 3,80). Die FFS fallen zu Beginn stark von 329 mg% auf 211 mg% ab, um dann wieder allmählich anzusteigen. Die Cholesterinmittelwerte beschreiben in ihrem zeitlichen Ablauf einen Kegel, dessen Spitze mit 89 mg% bei 24 Stunden im Normbereich liegt.

3.2.4. TABELLE

Mittelwerte von TG, VFS, FFS und Chol. nach 20 µg Endotoxin/
Tier

p-max	=	Signifikanz der maximalen zeitlichen Differenz
n.s.	=	eine Signifikanz läßt sich nicht errechnen
n	=	Anzahl der Tiere

	n	TG mg%	VFS mg%	FFS µval/l	CHOL mg%
0 h	6	100	159	382	61
6 h	6	90	131	293	66
24 h	6	145	251	264	89
30 h	6	139	224	294	81
48 h	6	201	298	344	77
p-max		0,01	0,01	n.s.	n.s.

4. Vergleich:

Thorotrast-Behandlung - Endotoxin-Behandlung

Beim Vergleich der Thorotrastgruppe mit der Endotoxingruppe in Bezug auf allgemeines Verhalten, Letalität und Serumlipidspiegel fällt besonders in den über 48 Stunden gemessenen Lipiden eine Parallelität (Abb. 1, 2) auf, der mit statistischen Methoden nachgegangen wird.

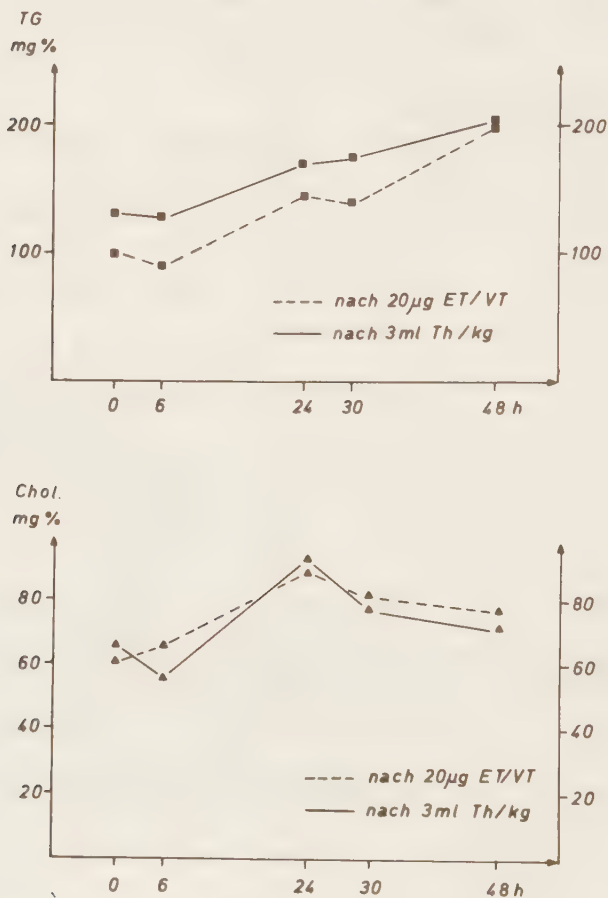


Abb. 1 und 2: Die Parallelität des Anstiegs der Triglycerid (TG)- und Gesamtcholesterinkonzentration (Chol.) im Plasma nach 3 ml Thorotrast (Th)/kg bzw. 20 µg Endotoxin (ET)/Tier.

Die VA und der F-Test bestätigen für alle Parameter mit F-Werten bis 3,2 bei einem konstanten Tabellenwert von 9,65 die Nullhypothese: Thorotrast- und Endotoxin-Behandlung gleichen einander.

Bestätigt wird das Ergebnis weiterhin durch die Prüfung der empfindlicheren Parallelität, der Wechselwirkung zwischen Behandlung und Zeit (AC); denn der höchste F-Wert von 1,71 für Chol. ist immer noch kleiner als der für alle Parameter konstante Tabellenwert von 3,80.

5. TABELLEN

Zusammenfassung von VA und F-Test mit entsprechenden Tabellenwerten für alle logarithmierten Einzelwerte der mit 3 ml Thorotrast/kg oder 20 µg Endotoxin behandelten Tiere. Die TG, VFS, FFS und Chol. beider Kontrollreihen werden auf die drei Faktoren: Behandlungsunterschiede, zeitliche Schwankungen im Versuchsablauf und Parallelität der Kurven untersucht.

1. Faktor C = Behandlung
 2. Faktor A = Zeit
 3. Faktor AC = Parallelität
- n.s. = nicht signifikant

TG

	SAQ	f	MAQ	F-Wert	Tab.Wert	Signifikanz
C	0,57	1	0,57	1,66	9,65	n.s.
B(C)	3,80	11	0,34			
A	3,34	4	0,83	18,20	3,80	0,01
AC	0,26	4	0,06	1,42	3,80	n.s.
Rest	2,01	44	0,04			
Summe	10,00	64				

VFS

	SAQ	f	MAQ	F-Wert	Tab.Wert	Signifikanz
C	0,26	1	0,26	0,86	9,65	n.s.
B(C)	3,37	11	0,30			
A	3,45	4	0,86	18,23	3,80	0,01
AC	0,24	4	0,06	1,29	3,80	n.s.
Rest	2,08	44	0,04			
Summe	9,43	64				

FFS

	SAQ	f	MAQ	F-Wert	Tab.Wert	Signifikanz
C	1,77	1	1,77	3,20	9,65	n.s.
B(C)	6,08	11	0,55			
A	0,74	4	0,18	1,91	3,80	n.s.
AC	0,09	4	0,02	0,23	3,80	n.s.
Rest	4,29	44	0,09			
Summe	12,98	64				

CHOL

	SAQ	f	MAQ	F-Wert	Tab.Wert	Signifikanz
C	0,00	1	0,00	0,03	9,65	n.s.
B(C)	2,62	11	0,23			
A	1,45	4	0,36	18,94	3,80	0,01
AC	0,13	4	0,03	1,71	3,80	n.s.
Rest	0,84	44	0,01			
Summe	5,05	64				

6. III. Versuchsreihe: Thorotrast und Endotoxin

6.1. Prinzip

40 Kaninchen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 1,9 kg werden nach initialer Blutentnahme 3 ml Thorotrast/kg Körpergewicht über den liegenden Katheter intravenös injiziert, vier Stunden später 20 µg ET. Bis zu Tier Nr. 26 wird Blut im 0-, 4-, 6-, 10-, 24-, 30- und 48-Stunden-Rhythmus entnommen. Später werden wegen obengenannter Gründe nur noch der 0-, 24- und 48-Stunden-Wert abgenommen. Tötung und Sektion erfolgen wie vorher beschrieben.

6.2. Ergebnisse

6.2.1. Allgemeines Verhalten der Versuchstiere und Letalität

20 bis 120 min. nach der ET-Gabe werden die Tiere unruhig, kauern sich hin, zittern und verweigern die Nahrungsaufnahme. Später werden Herzschlag frequent, Atmung dyspnoisch, Ohren und Schnauze kalt. Besonders auffallend ist die Schwäche der Tiere, die es ihnen nicht einmal gestattet, sich aufzurichten.

Die Tiere erholen sich, wenn überhaupt, erst gegen Ende des Versuchs. Der Tod tritt meist schleichend ein, manchmal auch unter Schreien. Einige Tiere springen praefinal gegen die Käfigbegrenzung und verletzen sich.

Von 40 Versuchstieren sterben neun innerhalb der ersten sechs Stunden nach der ET-Gabe. 11 weitere Tiere erleben die 24-Stunden-Kontrolle nicht, d.h. 20 von 40 Tieren sterben vor der geforderten Mindestversuchsdauer von 24 Stunden. Das entspricht einer Letalität von 50 %. Von 14 Kaninchen kann noch nach 48 Stunden Blut gewonnen werden, eins ist an Coccidiose erkrankt. Es wird ausgeschlossen.

6.2.2. Makroskopischer Sektionsbefund

In der Regel finden sich:

1. Zeichen der Rechtsherzinsuffizienz, dilatierte rechte Ventrikel, prall gefüllte Hohlvenen und eine Blutstauung in allen inneren Organen.
2. Eine durch multiple Blutungen und Infarkte blauschwarz verfärbte, harte und vergrößerte Milz.
3. Eine "bunte Lunge", die hämorrhagische Infarkte, diffuse und/oder petechiale Blutungen sowie ein mäßig starkes Oedem aufweist.

Bei 14 Tieren liegen petechiale Blutungen der Nebennieren vor, bei neun Tieren Nierenveränderungen. Fünf Tiere weisen die für das SSP typischen Nierenrindennekrosen auf: von einem hämorrhagischen Randsaum umgebene stecknadelkopfgroße, grauweiße Nekrosen, die disseminiert über der Nierenrinde liegen. Als Ursache dieser Nekrosen können in jedem dieser Fälle Fibrinpräcipitate in den Glomerulumschlingen nachgewiesen werden. Fünf Kaninchen weisen subepicardiale Blutungen auf, drei auffallende Thymusblutungen und ein Tier fleckförmige subseröse Dickdarmblutungen.

Schwarz-braune Thorotrastablagerungen in der Intima der Aortenklappe bzw. des Aortenbogens finden sich bei drei Tieren. Tier Nr. 58 muß wegen einer Coccidiose ausgeschlossen werden.

6.2.3. Fettstoffwechsel

Die untersuchten Blutlipide zeigen nach der kombinierten Injektion von TH und ET einen typischen Verlauf; denn nach 24 Stunden sind alle gemessenen Parameter deutlich angestiegen: die TG von 111 auf 719 mg%, die VFS von 190 auf 758 mg%, die FFS von 305 auf 716 $\mu\text{val/l}$ und das Gesamt-Cholesterin von 62 auf 155 mg%. Danach sind die TG am

deutlichsten, um fast das 7-fache, FFS und Cholesterin am geringsten, um das 2-bis 3-fache, angestiegen. Alle Anstiege sind auf dem 1 %-Niveau signifikant.

6.2.4. TABELLE

Mittelwerte der Einzelwerte und Zusammenfassung von VA und F-Test für Δ 0 - 24, der mit 3 ml TH/kg und 20 μ g ET/VT behandelten Tiere.

	0 h	24 h	48 h	F-Wert	Tab.-Wert	Signifikanz
TG	111	719	564	67,14	7,29	p = 0,01
VFS	190	758	663	178,46	7,33	p = 0,01
FFS	305	716	537	54,21	7,29	p = 0,01
Chol.	62	155	161	142,12	7,33	p = 0,01
n	19	19	13/11			

Mit Hilfe eines partiell hierarchischen Modells der VA, des F- und Scheffé-Testes wird der mittlere 24-Stunden Anstieg der Serumlipide nach Verabreichung von TH und ET mit den entsprechenden Werten der Kontrollreihen verglichen, die entweder TH oder ET erhalten hatten.

Dieser Behandlungsvergleich ergibt, daß die kombinierte Injektion von TH und ET gegenüber den Einzelgaben einen weiteren signifikanten Anstieg der Serumlipide zur Folge hat.

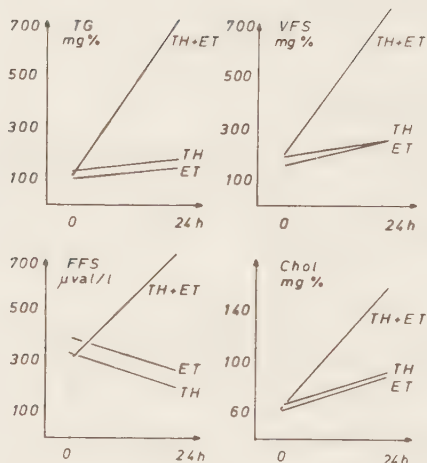


Abb. 3: Serumlipidanstieg der Triglyceride (TG), veresterten Fettsäuren (VFS), freien Fettsäuren (FFS) und des Gesamtcholesterins (Chol.) nach Kombinations- und Einzelbehandlung mit 3 ml Thorotrast (TH)/kg und 20 μg Endotoxin (ET)/Tier.

Dieser Behandlungsunterschied gilt für die Parameter TG, VFS und FFS, nicht jedoch für das Cholesterin.

Auch im zeitlichen Ablauf über 48 Stunden bildet das stoffwechselträge Cholesterin eine Ausnahme, denn es ist nach 48 Stunden nur geringfügig von 155 auf 161 mg% angestiegen, während die Serumspiegel der TG von 719 auf 564 mg%, der VFS von 758 auf 663 mg% und der FFS von 716 auf 537 $\mu\text{val/l}$ abgefallen sind.

Bei der Beurteilung der Lipoproteinelektrophorese nach GROSS und WEICKER, die bei den ersten Tieren der Testreihe durchgeführt wurde, fällt auf, daß vor Versuchsbeginn neben dem Neutralfettrest nur eine deutliche α -Bande sichtbar ist. Nach

24 Stunden tritt eine kräftige β -Bande auf. Im Verlauf des Versuchs erfährt der sog. Neutralfettrest, der den TG entspricht, eine ständige Zunahme. Nach 48 Stunden ist eine α -Bande kaum mehr erkennbar.

7. IV. Versuchsreihe: Marcumar, Thorotrast und Endotoxin

7.1. Prinzip

Einem Kollektiv von 45 Kaninchen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 1,8 kg wird fünf Tage vor Versuchsbeginn täglich das Coumarinderivat Marcumar[®] bis zu einer Gesamtdosis von 70 mg intravenös injiziert.

Ist die Thromboplastinzeit um mehr als 53 sec. verlängert, erhalten die Tiere wie in der Testreihe 3 ml Thorotrast/kg und 20 μ g Endotoxin. Diese Verlängerung der Thromboplastinzeit entspricht etwa einem Quickwert von 5 %.

Da Milz und Nieren makroskopisch regelmäßig frei von Blutungen und Infarkten sind und bei histologischen Untersuchungen der überlebenden Tiere in keinem Fall Fibrinpraecipitate in den Glomerulaschlingen nachgewiesen werden können, wird angenommen, daß das SSP durch die Marcumarisierung erfolgreich verhindert wird.

Die Blutentnahmen erfolgen nach 0, 24 und 48 Stunden, anschließend wird wie vorher beschrieben verfahren.

Von den Tieren, die das Versuchsende erleben, sprechen drei nicht auf Coumarin an. Ein Tier ist an Coccidiose erkrankt. Alle vier Tiere werden ausgeschlossen.

7.2. Ergebnisse

7.2.1. Verhalten der Versuchstiere und Letalität

Die Versuchstiere kommen bereits wenige Minuten nach der ET-Injektion in einen schweren Schock. Sie hören auf zu fressen, kauern sich hin, zittern und werden sowohl tachycard als auch tachy- und dyspnoisch. Viele röcheln und legen sich flach auf die Seite, einige koten ein und urinieren sanguinolent. Tier Nr. 90 hat alle Augenwinkel blutig verfärbt (Thromboplastinzeit: 2 min. 50 sec.).

Die Letalität ist mit 57 % gegenüber der Testreihe gesteigert, nur 19 von 45 Tieren erleben die 24-Stunden-Abnahme. Vier Tiere sterben bereits vor der TH-Gabe, zwei weitere vor der ET-Gabe, 12 Tiere bis zu sechs Stunden danach und acht Kaninchen zwischen sechs und 20 Stunden nach ET-Gabe. Von sieben Tieren kann auch nach 48 Stunden Blut gewonnen werden, zwei davon sind marcumarunempfindlich, d.h. bei diesen Tieren ist eine nennenswerte Verlängerung der Thromboplastinzeit durch die Marcumargaben nicht gelungen.

7.2.2. Makroskopische Befunde

Gegenüber der dritten Reihe, die nur mit TH und ET behandelt wurde, fallen vor allem massive Blutungen auf, von denen 14 Tiere betroffen sind, unter ihnen drei, die vor der ET-Gabe sterben. Fünf Tiere weisen eine Herzbeuteltamponade auf, vier einen hämorrhagischen Pleuraerguß, drei ein Hämaskos und je ein Tier eine intramurale Blutung, die die Magenwand auf 1 cm verdickt und eine Blutung in das Jejunumlumen von ca. 20 ml.

Die Lunge ist in der Regel nicht so stark wie in der TH-ET-Reihe infarziert aber durch massive Oedeme und diffuse Hämorrhagien blutig aufgequollen. Das Herz zeigt gehäuft herdförmige subepicardiale und vereinzelt transmurale Blutungen.

Ein Tier weist eine ringförmige braun-schwarze Thorotrast-ablagerung in die Intima der Aorta ascendens auf. Leber und Milz sind vergrößert, die Milz aber nur in einem Fall durch multiple Infarkte und Blutungen blauschwarz verfärbt wie bei der Testreihe. An den Nieren können in keinem Fall Veränderungen im Sinne eines SSP beobachtet werden. Die Nebennieren zeigen vereinzelt petechiale Blutungen, wie sie sowohl nach Auslösung eines SSP als auch als Folge einer Marcumartherapie beschrieben werden.

7.2.3. Fettstoffwechsel

Auch nach Praemedikation mit Marcumar sind die Serumlipide nach 24 Stunden signifikant ($p < 0,01$) angestiegen: die TG von 131 auf 516 mg%, die VFS von 212 auf 684 mg%, die FFS von 336 auf 677 $\mu\text{val/l}$ und das Chol. von 61 auf 132 mg%. Nach zwei Tagen haben die Blutspiegel von TG, VFS und Chol. Spitzen erreicht, die die 24- und 48-Stundenwerte der Testreihe ohne Marcumar deutlich übertreffen.

7.2.4. TABELLE

Mittelwerte der Einzelwerte und Zusammenfassung von VA und F-Test für Δ 0 - 24, der mit 70 mg Marcumar, 3 ml/kg Thorotrast und 20 μg Endotoxin behandelten Tiere.

	0 h	24 h	48 h	F-Wert	Tab.-Wert	Signifikanz
TG	131	516	720	67,14	7,29	$p = 0,01$
VFS	212	684	1151	178,46	7,33	$p = 0,01$
FFS	336	677	664	54,21	7,29	$p = 0,01$
CHOL	61	132	187	142,12	7,33	$p = 0,01$
n	15	15	5			

Prüft man alle vier Versuchsreihen mit den kombinierten statistischen Verfahren VA, F-Test und Scheffé-Test auf mögliche Behandlungsunterschiede, so ergibt sich für die mit Phenprocoumon, TH und ET behandelte Reihe ein signifikanter Unter-

schied zu den beiden nur mit TH oder ET behandelten Gruppen, nicht jedoch zur Kombinationsbehandlung von TH und ET. Bei diesem Vergleich wird die Nullhypothese bestätigt, die besagt, daß eine Vorbehandlung mit Marcumar ohne signifikanten Einfluß auf den Lipidanstieg nach TH und ET bleibt.

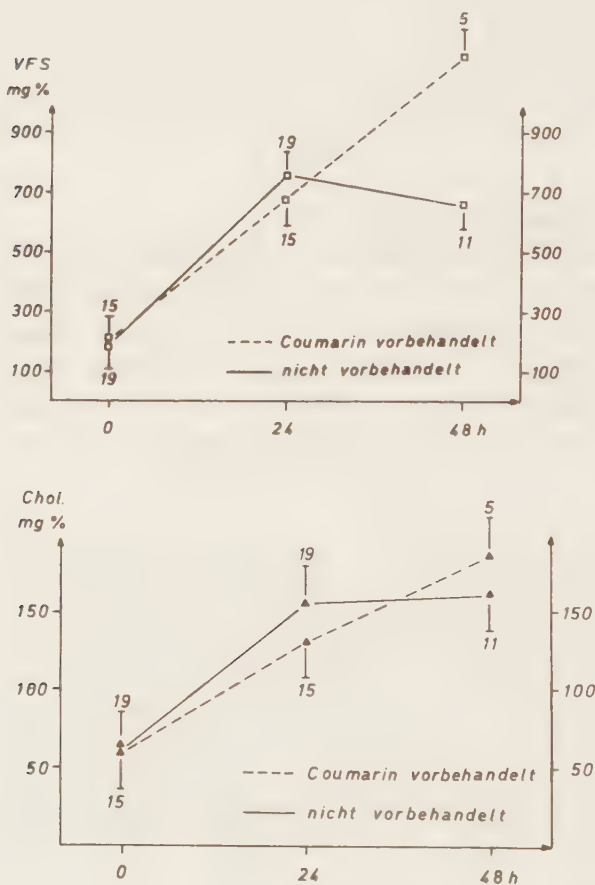


Abb. 4 und 5: Ähnlicher Anstieg der veresterten Fettsäuren (VFS) und des Cholesterins (Chol.) im Plasma nach kombinierter Applikation von Thorotrast und Endotoxin, gleichgültig, ob diese mit Coumarin vorbehandelt worden waren oder nicht.

Der mögliche Einwand, daß die Lipidanstiege der marcumari-
sierten Gruppe auch mit den zahlreichen massiven Blutungen
erklärt werden könnten, kann durch Einzelbeobachtungen ent-
kräftet werden; denn von den 14 Tieren, die 24 Stunden über-
lebten und damit in die Statistik aufgenommen werden konnten,
wiesen bei der Sektion erstens nur sieben Tiere größere Blutun-
gen auf und zweitens lag der durchschnittliche dreifache Lipid-
anstieg dieser Tiere deutlich unter dem fünffachen Anstieg der
Tiere, die keine größeren Blutungen aufwiesen.

8. TABELLEN

Zusammenfassung von VA und F-Test mit entsprechenden
Tabellenwerten für die Differenz der logarithmierten 24- und
0-Stunden-Werte aller vier Versuchsgruppen.

Die TG, VFS, FFS und Chol. der vier Versuchsgruppen werden
auf die drei Faktoren: Behandlungsunterschiede, zeitliche
Schwankungen im Versuchsablauf und Parallelität der Kurven
untersucht.

- 1. Faktor C = Behandlung
- 2. Faktor A = Zeit
- 3. Faktor AC = Parallelität
- n.s. = nicht signifikant

TG

	SAQ	f	MAQ	F-Wert	Tab.-Wert	Signifikanz
C	10,13	3	3,37	8,22	4,29	0,01
B(C)	17,67	43	0,41			
A	31,89	1	31,89	67,14	7,29	0,01
AC	7,14	3	2,38	5,01	4,29	0,01
Rest	20,42	43	0,47			
Summe	87,28	93				

VFS

	SAQ	f	MAQ	F-Wert	Tab.-Wert	Signifikanz
C	5,39	3	1,79	5,47	4,33	0,01
B(C)	12,80	39	0,32			
A	19,16	1	19,16	178,46	7,33	0,01
AC	3,50	3	1,16	10,88	4,33	0,01
Rest	4,18	39	0,10			
Summe	45,05	85				

FFS

	SAQ	f	MAQ	F-Wert	Tab.-Wert	Signifikanz
C	5,92	3	1,97	7,98	4,29	0,01
B(C)	10,63	43	0,24			
A	5,87	1	5,87	54,21	7,29	0,01
AC	5,94	3	1,98	18,27	4,29	0,01
Rest	4,66	43	0,10			
Summe	33,05	93				

CHOL

	SAQ	f	MAQ	F-Wert	Tab.-Wert	Signifikanz
C	1,01	3	0,33	2,06	4,33	n.s.
B(C)	6,39	39	0,16			
A	10,65	1	10,65	142,12	7,33	0,01
AC	1,23	3	0,41	5,49	4,33	0,01
Rest	2,92	39	0,07			
Summe	22,22	85				

V. DISKUSSION

Auch das Modell zur Auslösung des SSP des Kaninchens mittels TH und nachfolgender ET-Injektion führt nach 24 Stunden zu einer markanten Hyperlipäemie mit einem Anstieg von TG, FFS, VFS und Chol. Der TG-Anstieg fällt dabei mit einem Anstieg auf das 7-fache des Ausgangswertes am deutlichsten aus. Die Befunde anderer Untersucher werden damit bestätigt (61, 73).

Über ähnliche Serumlipidveränderungen, die als Folge einer Lipolysestimulation gedeutet werden, berichtete GALLIN (48, 49), der bei experimenteller und klinischer gramnegativer Sepsis die TG dann ansteigen sah, wenn der erhöhte FFS-Spiegel wieder abfiel. Mit der Hyperlipazidaemie geht auch eine zeitlich korrelierte Zunahme des freien Glyzerins einher (105), das zur Beurteilung der Lipolyse deshalb wichtiger ist, weil sie nicht sofort wie die FFS resynthetisiert werden können (55). Ferner fand KOVATS nach ET eine Abnahme des Depotfettes im Omentum majus (73).

Über 48 Stunden fortlaufende elektrophoretische Messungen zeigen eine ständige Zunahme des NF-Restes und der β -LP, dem Hauptträger der TG und eine ständige Abnahme der α -LP, dem Carrier der Phospholipide. Dies läßt im ersten Fall auf eine, dank des erhöhten FFS-Angebots stimulierte TG- und Lipoprotein-Synthese in der Leber schließen (68), im zweiten Fall aber auf eine Störung der Lipoprotein-Synthese.

Im Rahmen der Notfallsituation, 50 bis 60 % der Tiere sterben im ET-Schock, erscheint die Lipolyse sinnvoll; denn die FFS sind mit ihrer HWZ von ca. 2 min. (79) als metabolischer Treibstoff fast aller Organe schnell verfügbar, besonders aber für den Energiestoffwechsel des Herzens und der Muskulatur, wo sie schnell zu CO_2 oxydiert werden können. Gegenüber der

Glukose, die im Rahmen der allgemeinen Stoffwechselacceleration auch erhöht ist, liegt ein weiterer Vorteil darin, daß Lipide im Fettgewebe fast unbegrenzt vorhanden sind. Andererseits kann man der Hyperlipaemie eine Reihe schädlicher Effekte zuweisen, die sämtlich zur Gerinnungsaktivierung beitragen können. So kann nicht nur die Hämodynamik durch sogenannte Sludgebildung (71) gestört und die Klärfunktion des RES (83) durch Elimination von NF zusätzlich als Ausdruck einer indirekten Wirkung auf die Hämostase belastet werden, sondern auch die Hämostase direkt gestört werden durch

- a) Hemmung der Fibrinolyse, die vor allem den β -LP zugeschrieben wird (72, 107),
- b) eine ausgeprägte prokoagulatorische Wirkung langkettiger FS (29),
- c) den über die Lipidphagozytose bedingten Plättchenabfall, der mit einer Erhöhung der Thrombozytenadhaesivität und -aggregation einhergeht (115).

Welche Mechanismen sind jedoch für die ausgeprägte lipolytische Wirkung der massiven Verbrauchskoagulopathie bei Auslösung des SSP verantwortlich? Hier ist in erster Linie an eine Vermittlung durch Katecholamine zu denken (112).

Sie üben einen direkten Angriff auf das Depotfett aus.

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Frage nachgegangen, ob die massiv aktivierte Gerinnung, per se, als Auslöser der Lipolyse und der nachfolgenden Hyperlipidämie in Frage kommt. Die durch Coumarine gehemmte Synthese der Gerinnungsfaktoren II, V, VII und IX verhindert, wie SHAPIRO (119) zeigte, die disseminierte intravasale Gerinnung und damit die Entwicklung eines gen. SSP.

SCHNEEBERGER (112), der das Gerinnungssystem des Kaninchens nach TH und ET-Injektion, unter fast identischen Bedingungen wie ich untersuchte, konnte bereits 30 min. nach TH-Injektion einen Abfall der Leukozyten, Thrombozyten, des

Fibrinogens und der Plasmafaktoren V und XII beobachten. Die folgende ET-Injektion führte zu einer massiven Aktivierung des Gerinnungssystems. Bei 12 von 20 Tieren fanden sich Fibrinablagerungen in den Kapillaren der Glomerula. Das TEG zeigte die für die Verbrauchskoagulopathie typischen Veränderungen: Verlängerung der Gerinnungszeit und extreme Verschmälerung der maximalen Amplitude. Daneben fanden sich eine Senkung des Fibrinogenspiegels und der Aktivität der Faktoren V, VII und XII sowie Verlängerung der Prothrombinzeit.

Die Störungen des hämostatischen Gleichgewichts waren zum Teil bereits 30 min. nach der ET-Injektion signifikant. Weil eine Coumarin-Vorbehandlung nicht die verhältnismäßig geringen Änderungen nach TH-Gabe zu verhindern vermag, kann man nach Ansicht von MÜLLER-BERGHÄUS (94) auf protein-precipitierende Eigenschaften des Thorotrasts schließen. Der massive Zusammenbruch des hämostatischen Potentials nach ET-Gabe wird jedoch durch Coumarin völlig gehemmt. Der Behandlungsunterschied zur nicht mit Coumarin vorbehandelten Gruppe ist bereits nach 30 min. signifikant; Kapillarthromben in den Glomerulakapillaren lassen sich in keinem der neun mit Coumarin behandelten Tiere nachweisen. Bei gleicher Versuchsanordnung variiert im Gegensatz zu den Gerinnungsfaktoren das Serumlipidverhalten nicht.

- A. Während sich die Lipide nach TH- bzw. ET-Einzelgaben fast identisch verhalten, differieren die Gerinnungsparameter nach TH von denen nach ET-Gabe.
- B. Trotz Coumarinbehandlung steigen alle gemessenen Parameter des Lipidstoffwechsels auf die gleichen signifikanten Werte an wie ohne Vorbehandlung (Abb. 6 und 7), während die Gerinnungsparameter: Thrombozytenzahl, Fibrinogenspiegel, TEG-Daten und Hageman-Faktor nach der ET-Injektion sistieren und den abrupten Sturz wie nach alleiniger Gabe von TH und ET vermissen lassen.

C. Unveröffentlichte Untersuchungen von WILLE und KISCHKAT (136) bestätigen diesen Befund. Es gelang ihnen zwar mittels Streptokinasetherapie, die Ausbildung eines SSP zu verhindern, nicht jedoch die Mobilisierung der Depotfette.

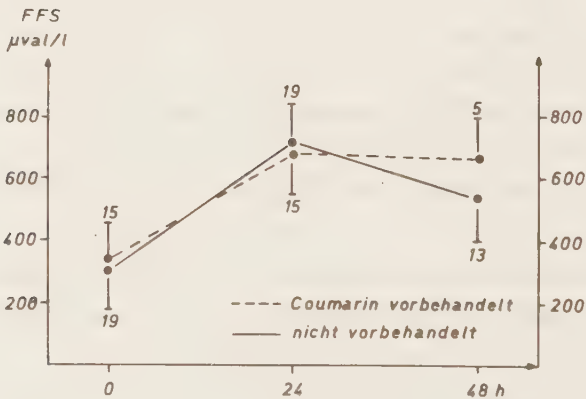
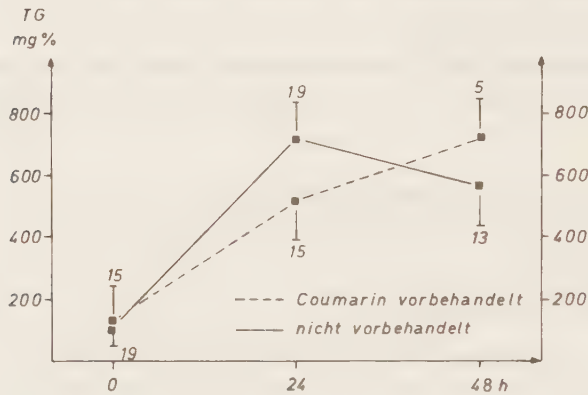


Abb. 6 und 7:

Ähnlicher Anstieg der Triglyceride (TG) und freien Fettsäuren (FFS) im Plasma nach kombinierter Applikation von Thorotrast und Endotoxin gleichgültig, ob diese mit Coumarin vorbehandelt worden waren oder nicht.

Das Lipolysesyndrom des Kaninchens nach Auslösung eines SSP kann daher kaum als Folge einer disseminierten intravasalen Gerinnung angesehen werden. Andere pathogenetische Mechanismen müssen in Betracht gezogen werden.

Hämodynamisch registriert man beim septischen wie beim ET-Schock ein vermindertes HZV, einen erniedrigten mittleren arteriellen Blutdruck und einen erhöhten peripheren Widerstand. Die Ursache ergibt sich aus tierexperimentellen Befunden: nach ET-Injektion kommt es zu einer akuten Abdrosselung des venösen Rückflusses infolge Konstriktion kleinster Venen und Venolen, da weder Blutdruck noch HZV abfallen, wenn man den venösen Blutdruck künstlich durch ein Blutreservoir im Normbereich hält. Die Venolenspasmen werden beim Hund vor allem in den postsinusoidalen Sphinkteren der Leber gefunden. Beim Menschen vermutet man sie im gesamten Organismus (131).

Die biogenen Amine Histamin und Serotonin werden für die Widerstandserhöhung im postkapillären Strombett verantwortlich gemacht (137). SPINK et al (122) fanden nach ET einen 8-fach erhöhten Histaminspiegel. HADDY (57) konnte nach intravenöser Histamingabe vasokonstriktorische Wirkungen verzeichnen, die dem ET-Effekt ähnelten. URBASCHEK (129) wies vitalmikroskopisch im paraadventitiellen Gewebe eine Entspeicherung der histaminhaltigen Mastzellen nach. Als Serotoninquelle kommen die zerfallenen Thrombozyten und Leukozyten in Frage, die auch Histamin enthalten (11, 32). Katecholamine und Histamin können nach den Untersuchungen von RUWISCH (105) mit spezifischen Antidots als wesentliche FFS Liberatoren angesehen werden, obgleich ein direkter Angriffsort des Histamins nicht identifiziert werden konnte.

Im pathophysiologischen Ablauf des ET-Schocks kommt es über die Barorezeptoren des Carotissinus und des Aortenbogens zu einer sympatho-adrenalen Stimulation (38, 62, 86), die mit

einem massiven, teils bis zu 100-fachem Anstieg der Katecholamine einhergeht (104). Der Anstieg ist um so höher, je tiefer der Blutdruck abfällt. Praemortal ist er am höchsten. Die Bedeutung dieser Stimulation liegt in der Verstärkung des Gefäßtonus und der Herzleistung zur Überbrückung der akuten Lebensgefahr. Auf längere Sicht gesehen, verschlimmert aber die Katecholaminausschüttung über die Vasokonstriktion den Schockzustand, da die Durchblutung der Peripherie dadurch nur unwesentlich gesteigert wird. Weitere Hinweise auf die Bedeutung der Katecholamine für den ET-Schock erbrachten LILLEHEI et al. durch direkten Vergleich des ET-Schocks mit dem Adrenalschock (85). Sie fanden eine weitgehende Übereinstimmung.

Während Serotonin und Histamin kaum einen lipolytischen Effekt besitzen (130), sieht man die Katecholamine als die Mobilisatoren der FFS aus dem Fettgewebe an. Direkte Applikation von Adrenalin (40, 54) und auch von NA (114) führt zu einem eindeutigen Anstieg des FFS im Blut. Der Effekt ist evident, auch in vitro kann er durch kleinste Mengen von 0,1 - 1 μ /ml erreicht werden.

Ob die Steuerung der Lipolyse im Stress mehr dem noradrenergisch-nervalen oder dem adrenergisch-medullären System zukommt, war lange Zeit nicht entschieden. WENKE'S (135) in vitro Versuche ergaben eine bessere Wirksamkeit von NA. Im Kältestress adrenaletomierter Tiere stiegen die FFS, im Gegensatz zur Glucose weiter an (51). Spezifische Stimulation und Hemmung des NA korreliert gut mit der durch Kälte induzierten Lipolyse (123).

HAVEL et al (52) und MENGE et al (93) blockierten mittels Hexamethonium die sympathischen Ganglienzellen und beobachteten einen prompten Abfall des FFS. Aus diesen Befunden muß man schließen, daß die FFS-Mobilisierung im Rahmen eines Kältestress (123), nach psychischer oder physischer Belastung (58), nach chirurgischem Eingriff (132) oder Herzinfarkt (20) oder infolge eines ET-Schocks (66) in erster Linie durch eine

Vermittlung von NA verursacht wird. Die morphologische Beobachtung, daß die Adipozyten des braunen und weißen Fettgewebes direkten Kontakt mit gemischten Nervenfasern besitzen (99), rundet die obigen Befunde ab.

Jedoch reagiert das lipolytische System der Fettzellen neben den Katecholaminen auf eine Anzahl anderer Peptide und Hormone, besonders aber auf ACTH, Glucagon und TSH. Diese Substanzen induzieren über eine Aktivierung der Adenylcyclase – wie Adrenalin und Noradrenalin – die Bildung des cyclischen 3'5' AMP. Dieses immer mehr im Zentrum des allgemeinen Stoffwechsels stehende Phosphat wirkt als "second messenger" und letzter einheitlicher Schritt direkt auf die "hormonsensitive Lipase" der Fettzellen und leitet damit die Spaltung der deponierten TG ein (99).

DESBALS (36) wies in seinen Untersuchungen nach, daß beim Kaninchen angeblich nicht die Katecholamine für die Lipolyse verantwortlich sind. Es gelang ihm weder mit Adrenalin noch mit Noradrenalin, weder in vivo noch in vitro, die Lipolyse zu stimulieren. Nach Adrenalectomie beobachtete er jedoch eine starke Lipidmobilisation. Er führte sie in Anbetracht des Regelkreises Hypothalamus-Hypophyse-Nebenniere auf eine zügellose Ausschüttung von Corticotropin in das Blut zurück. In Ergänzungsversuchen löste er mittels ACTH bzw. Synacten Applikationen trotz fehlender Nebennieren eine Hyperlipämie aus. Gleichzeitig konnte er eine Hypoglykämie und allgemeinen Gefäßkollaps beobachten. Gaben von Hydrocortison, das die ACTH Sekretion hemmt bzw. Hypophysektomie, das sie unmöglich macht, verhinderten diese extraadrenalen ACTH-Effekte.

Neben dem ACTH kann das "Lipotropin" als ein weiteres spezifisch lipolytisch wirkendes Hormon der Hypophyse in Betracht gezogen werden. Es ist ein potentes Polypeptidhormon des HVL. Seine Existenz und Eigenständigkeit scheint immer mehr gesichert. So ergeben spezifische Antiseren im Ouchterlony Doppel-Diffusions-Test Praecipitationsbanden mit dem Lipotropin, nicht aber mit STH, ACTH und LH. Weiterhin hemmen sie große Quanten an Lipotropin ohne die ACTH stimulierte Lipolyse zu stören (116).

Aber auch eine elektrische Stimulation des Hypothalamus vermag, ohne den TG- oder Cholesterin-Spiegel zu beeinflussen, die FFS Konzentration des Plasmas deutlich zu erhöhen, wie BARKAI und ALLWEIS berichteten (9). Eine Lokalisation des Effekts gelang ihnen jedoch nicht.

Betrachtet man jedoch die Blutlipide nach TH- bzw. ET-Einzelgaben (Abb. 8 und 9), so wird durch das auffallende statistisch gesicherte, parallele Verhalten der Parameter das Interesse auf einen gemeinsamen Angriffspunkt gelenkt.

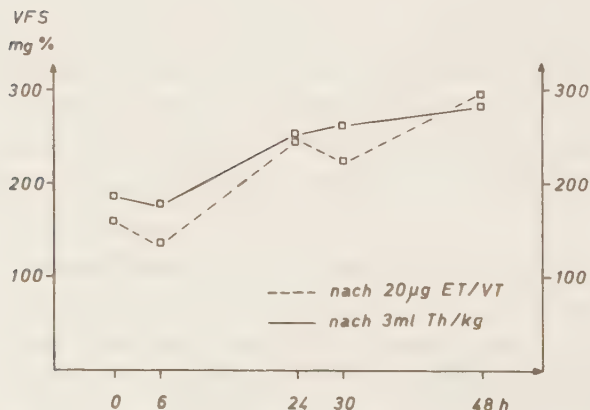
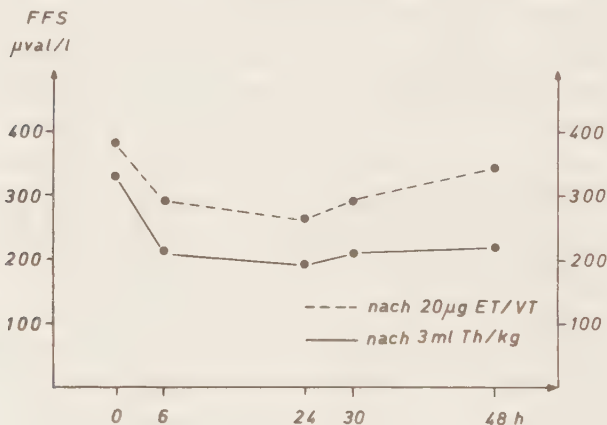


Abb. 8 und 9: Die Parallelität des Anstiegs der freien (FFS) und veresterten (VFS) Fettsäurenkonzentration im Plasma nach 3 ml Thorotrast (Th)/kg bzw. $20\mu\text{g}$ Endotoxin (ET)/Tier.

Während vom ET gezeigt werden konnte (97), daß alle ET-Präparationen aus chemisch differenten Molekültypen bestehen und die Heterogenität dieser Komponenten für die große Varianzbreite der ET-Wirkungen verantwortlich ist, unter anderem auch für direkte Wirkungen auf das ZNS, gilt dies für TH nicht. Seine bekannte Hauptwirkung ist die Blockierung des RES, weniger ausgeprägt sind die geringgradigen prokoagulatorischen (88) und fibrinolyseinhibitorischen Wirkungen (84). Da nach den vorliegenden Untersuchungen die Gerinnung per se nicht als Auslöser einer Lipolyse in Frage kommt, muß der gemeinsame Angriffspunkt, die Leber bzw. das RES, mit in die Betrachtung einbezogen werden.

Die Leber stellt nicht nur das Zentralorgan im Stoffwechsel der exo- und endogenen Lipide dar (59), sondern es enthält auch den Hauptanteil aller Makrophagen (6). Neuere Untersuchungen belegen zwar das Konzept, daß Clearance und Metabolismus von Chylomikronen-TG eine Funktion der Leberparenchymzellen sei (39), aber auch das RES scheint, wie die Lipid-accumulation in den Makrophagen bei Reticuloendotheliosen und Atherosklerose zeigt, eine Rolle im Lipidstoffwechsel zu spielen (4).

So konnte in vitro demonstriert werden, daß Makrophagen TG hydrolysieren (33, 43), FS reutilisieren (34), Kupffer'sche Sternzellen particuläre Lipide phagozytieren (102) und Albumin-gebundene Palmitinsäure oxydieren können (106).

Incorporierte TG werden in großen phagozytären Vakuolen degradiert (25). Diese metabolische Aktivität kann im Zusammenhang mit dem enzymatischen Profil der Makrophagen gesehen werden, die Lipasen und Hydrolasen für alle Hauptlipidklassen besitzen (46). Der Befund, daß die lysosomale Konzentration der Lebermakrophagen größer als die der Hepatozyten ist (8), läßt im Zusammenhang mit der in vitro Kapazität der Makrophagen Lipide zu metabolisieren, die Vermutung zu, daß in vivo die Beteiligung am Fettstoffwechsel erheblich ist.

In früheren Studien (18, 27) wurde die proteolytische Aktivität der RE-Zellen gemessen, indem man nach der Clearance von J^{131} markiertem Albumin entweder den Abfall der Leberradioaktivität oder aber den Anstieg von freiem Jod^{131} im Blut bestimmte. In analogen Versuchen mit einer gelatinisierten Triolein Jod^{131} RE-Test-Lipidemulsion, die sich selektiv im RES anreichert, bestimmten CORNELL und SABA (30) die Phagozytoseaktivität und die lipolytischen Aktivitäten des RES. Nach der Aufnahme in die Makrophagen wird das markierte TG dejodiert und accumuliert progressiv im Blut, wobei die Dejodinationsrate mit der injizierten Dosis in Prozent und absoluten Mengen korreliert.

Die Makrophagen scheinen aber nicht nur spalten, sondern auch synthetisieren zu können. So wurde in vivo an Rattenmakrophagen die Hydrolyse von TG und die Inkorporation der TG-FS in Phospholipide und Cholesterin demonstriert (35). Beide Lipide sind essentielle Bestandteile der Lipoproteine, deren Formation bisher fast exklusiv mit den Leberparenchymzellen in Verbindung gebracht wurde. Die Anwesenheit von mit TCA präcipitabilem, Jod^{131} markierten Lipiden in der Zirkulation zu einem Zeitpunkt, in dem die Clearancekinetik auf eine vollständige Klärung der phagozytischen particulären Lipide schließen läßt, sowie die selektive Lokalisation der particulären Lipide im RES lassen eine LP synthetisierende Potenz vermuten (30). Diese These wird durch die Beobachtung gestützt, daß Injektionen particulärer, vom RES geklärter Lipide, eine Hyperlipoproteinämie beim Kaninchen hervorrufen können (64).

Auch aus morphologischer Sicht wird die Zuordnung Leberparenchymzelle - Metabolismus und Kupffer'sche Sternzelle - Phagozytose unscharf. So fand KLUGE (70) elektronenoptisch vorgespitztes TH nicht nur in den Makrophagen, sondern auch in den den Disse'schen Räumen benachbarten Hepatozytencompartements wieder und konnte gleichartige Verän-

derungen in beiden Zelltypen der Leber beobachten.

HOFFMANN (63) bemerkte im Elektronenmikroskop nach intravenöser Injektion von 5 mg Bleiacetat pro Ratte in den gleichen Leberzellarten eine Reihe von unspezifischen, ultrastrukturellen Veränderungen, wie Anstieg der cytoplasmatischen Fetttröpfchen und Abfall der Glykogengranula.

Diese Befunde korrelieren für 3 - 12 Stunden pro Injektion mit einer Clearanceschwäche für kolloidale Kohle und "RE Test lipid Emulsion", nicht jedoch mit der Empfindlichkeit auf ET. Diese ET-Sensibilität scheint im Gegensatz zu SELYE's Postulat (118) vom phagozytären Status unabhängig zu sein, denn eine Stimulation des RES vermag die ET-Sensibilität der Tiere zu erhöhen (16, 83), zu senken (13, 44) oder gar ohne Einfluß auf sie zu bleiben (127). Obwohl die ultrastrukturellen Veränderungen nach Bleiacetat vor allem die Makrophagen betreffen (63), weisen der Anstieg des unkonjugierten Bilirubins, gesteigerte Retention von BSP sowie Anstieg der SGOT und alkalische Phosphatase auf eine Dysfunktion der Leberparenchymzellen hin (128). Die Autoren nehmen daher an, daß beide Zellpopulationen in der Abwehr des Wirtsorganismus eine wichtige Rolle spielen.

Vermutet man in der Leber die gemeinsame Endstrecke der gleichartigen TH und ET bedingten Lipidstoffwechseländerungen, muß man auch an das RES als ein Stellglied im Steroidmetabolismus denken, weil die Δ^4 -3-Keto-Steroid-Hydrogenase, die den ersten irreversiblen Schritt bei der Inaktivierung der NNR-Hormone katalysiert, in den Kupffer'schen Sternzellen lokalisiert ist (95). Auch MEKATA (92) hat nach RES Stimulation einen Anstieg dieses Enzyms und der Phagozytoseaktivität bei gleichzeitigem Abfall der Alaninamino-transferaseaktivität gefunden und umgekehrte Verhältnisse bei hungernden Tieren, und nimmt daher an, daß die RES-Funktion

mit dem allgemeinen Körperstoffwechsel über den Metabolismus der NNR-Hormone verbunden ist.

Ein Zusammenhang mit dem Lipidstoffwechsel ergibt sich indirekt. Die regelrechte Physiologie der medullären chromaffinen Zellen, dem Produzenten der stärksten lipolytisch wirkenden Hormone Adrenalin und Noradrenalin, ist ohne Glucokorticoide kaum möglich, da sie nicht nur die Synthese der Katecholamine, sondern auch ihre Freisetzung und Degradation (101) kontrollieren.

Für eine Aktivierung des FFS-TG Zyklus kann aber prinzipiell nicht nur die Produktion und Sekretion der VLD-Lipoproteine verantwortlich gemacht werden. Auch die hormonsensible Lipase des Fettgewebes, die Aktivierung der LPL in den Wänden der Kapillaren, sowie die Lipidaufnahme und -utilisation in der Peripherie sind dazu in der Lage (99).

Welche Rolle das RES besonders aber die Kupffer'schen Sternzellen im Lipidstoffwechsel spielen, ob sie über die Beeinflussung des Steroidmetabolismus indirekt und regulativ eingreifen oder selbst in der Lage sind, Lipoproteine zu synthetisieren oder ein Einfluß gar nur vorgetäuscht wird, muß systematischen Untersuchungen vorbehalten bleiben.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Bei dem klassischen tierexperimentellen Modell zur Auslösung einer Verbrauchskoagulopathie, dem generalisierten SSP des Kaninchens, kommt es nicht nur zu charakteristischen Veränderungen der Hämostase, sondern auch des Fettstoffwechsels, die als Lipidmobilisierungssyndrom bezeichnet werden können.

In den vorliegenden Tierexperimenten soll der Frage nachgegangen werden, ob bei der Verbrauchskoagulopathie ein ursächlicher Zusammenhang zwischen Gerinnungsaktivierung und Lipidmobilisation besteht.

Als Modell einer Verbrauchskoagulopathie wird das generalisierte SSP nach kombinierter Gabe von TH und ET gewählt. 40 Kaninchen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 1,9 kg werden 3 ml TH/kg und nach vier Stunden 20 µg ET intravenös injiziert. Dies löst bei den Tieren einen Schockmechanismus mit schweren Allgemeinsymptomen aus und führte bei 50 % der Tiere zum Tode. Von 20 überlebenden Tieren weisen fünf Nierenrindennekrosen auf. Die Fettstoffwechseluntersuchungen zeigen nach 24 Stunden einen signifikanten Anstieg von TG, VFS, FFS und Chol. im Serum. Der TG-Anstieg auf das 7-fache des Ausgangswertes fällt dabei am höchsten aus.

Eine zweite Reihe von 45 Tieren mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 1,8 kg wird bei gleicher Versuchsanordnung so mit dem Coumarinderivat Marcumar[®] vorbehandelt, daß die normale Thromboplastinzeit von 11,8 sec. auf 53 sec. und mehr verlängert wird und damit im therapeutischen Bereich von 5 % der Norm liegt. Nach dieser Vorbehandlung können keine Nierenrindennekrosen beobachtet werden. Ebenso wenig ist es möglich, in den Glomerulaschlingen Fibrinpraecipitate nachzuweisen. Eine Gerinnungshemmung scheint erreicht und damit eine Verhinderung der Verbrauchskoagulopathie.

Trotz Therapie mit Marcumar[®] geraten fast alle Tiere in einen schweren Schock. 57 % sterben vor der 24-Stunden-Abnahme. Die Erhöhung der Letalität kann teils auf den Mangel an den Gerinnungsfaktoren II, V, VII und IX, teils auf die Erhöhung der Kapillarpermeabilität durch Marcumar[®], teils auf größere coumarininduzierte Blutungen zurückgeführt werden.

Nur fünf Tiere erleben die 48-Stunden-Abnahme. 14 Tiere entwickeln größere hämorrhagische Ergüsse in Pleura-, Pericard- und Peritonealhöhle.

Die Serumlipiduntersuchungen weisen nach 24 Stunden einen etwas geringeren, wiederum aber signifikanten Anstieg aller bestimmten Serumlipide auf. Nach 48 Stunden liegen die Serumwerte der TG, VFS und des Cholesterins höher als die 24-Stunden-Werte der nicht mit Marcumar[®] vorbehandelten Tiere.

Bei der statistischen Auswertung lassen sich trotz der Gerinnungshemmung keine signifikanten Unterschiede in dem Verhalten der Serumlipide ermitteln. Ein durchgehender ursächlicher Zusammenhang zwischen Gerinnungsaktivierung und Hyperlipidämie nach ET- und TH-Gabe kann daher beim Kaninchen nicht angenommen werden; zumal eine Hyperlipidämie der Marcumartiere infolge des Blutverlustes anhand der Einzelbeobachtungen unwahrscheinlich ist.

Zur Kontrolle werden sieben Tiere nur mit 3 ml TH/kg und sechs Tiere ausschließlich mit 20 µg ET behandelt. Keines dieser Tiere entwickelt eine Schocksymptomatik, alle überleben. TG, VFS und Chol. erreichen nach 24 bzw. 48 Stunden Werte, die zwar signifikant über den Ausgangswerten, aber auch signifikant unter den entsprechenden Werten der Test- und Therapiereihe liegen. Die FFS fallen ab.

Da beim Vergleich der Kontrollgruppen eine fast exakte Parallelität der Lipidkurven auffällt und statistisch gesichert werden kann, wird die Ähnlichkeit der TH- bzw. ET-Wirkung auf den Lipidstoffwechsel diskutiert.

VII. LITERATUR

1. VAN AKEN, W.G., VREEKEN, J.: in Blutgerinnung - Kreislauf-Stoffwechsel "Reversible Aggregation of Thrombocytes". A new look on the clearance mechanism of the RES.
Hrsg. v. H.G. Lasch, K. Huth, H. Neuhof
Schattauer Verlag, Stuttgart (1971)
2. VAN AKEN, W.G., GOOTE, Th.M., VREEKEN, J.:
Platelet aggregation: an intermediary mechanism in carbon clearance.
Scand. J. Haemat. 5 (1968) 333-338
3. ALTURA, B.M., HERSHEY, S.G.: Sequential changes in reticuloendothelial system function after acute hemorrhage.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 139 (1972) 935-939
4. ANDERSON, W.A.D., SCOTTI, T.M.: Synopsis of Pathology, Seventh Edition
The C.V. Mosby Company 538 (1968)
5. APITZ, K.: Die Wirkung bakterieller Kulturfiltrate nach Umstimmung des gesamten Endothels beim Kaninchen.
Virchow Arch. 293 (1934)
6. ASCHOFF, L.: Reticuloendothelial system.
in: Lectures on Pathology.
New York: Harper, p. 1-33 (1924)
7. ASHWORTH, C.T., LEONHARD, J., EIGENBRODT, E.H., WRIGHSMANN, F.J.:
Hepatic intracellular osmiophilic droplets. Effect of lipid solvents during tissue preparation.
J. Cell. Biol. 31 (1966) 301-318
8. BARKA, T., SCHAFFNER, F., POPPER, H.:
Acid phosphatase and reticuloendothelial system.
Lab. Invest. 10 (1961) 590-607
9. BARKAI, A., ALLWEIS, C.: Effect of electrical stimulation of the hypothalamus on plasma free fatty acid concentration in cats.
J. of Lipid Research, 13 (1972) 725-31
10. BARNHART, M.I., CRESS, D.C., VELTRAINO, A.:
Cell fates of fibrin and products of fibrinolysis.
Fed. Proc. 26 (1967) 538

11. BARTH, E., MUNDT, E.: Das metastasierende Dünndarmkarzinoid.
Münch. med. Wschr. 14 (1961) 730
12. nach Arbeitsvorschlag der BEHRING-WERKE AG. Marburg zum Calcium Thromboplastinreagenz.
13. BEESON, P.B.: Tolerance to bacterial pyrogens.
J. exp. Med. 86 (1947a) 39-44
14. BEESON, P.B. Effect of reticuloendothelial blockade on immunity to the Schwartzman phenomenon.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.) 64 1947 b) 146
15. BELLER, F.K., GRAEFF, H.: Deposition of glomerular fibrin in the rabbit after infusion with endotoxin.
Nature 215 (1967) 295
16. BENACERRAF, B., THORBECKE, G.J., JAKOBY, D.: Effekt of zymosan on endotoxin toxicity in mice.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 100 (1959) 796-799
17. BIÖRCK, G., BLOMQUIST, G., SIEVERS, J.: Cholesterol values in patients with myocardial infarction and in a normal control group.
Acta med. scand. 156 (1957) 493
18. BIOZZI, G., HALPERN, B.N., STIFFEL, C., MOUTON, D.: Qualitative study of the metabolic activity of the Kupffer cells on a heat-denatured serum albumin labeled with ^{131}J .
Brit. J. expl. Pathol. 39 (1958) 510-518
19. BLEYL, U.: Arteriosklerose und Fibrin Inkorporation. Untersuchungen zur Pathogenese der Arteriosklerose.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1969)
20. BÖHLE, E., BIEGLER, R., TEICHE, R.: Untersuchungen über die Regulation der unveresterten Fettsäuren des Blutserums bei der vegetativen Gesamtschaltung.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 68 (1962) 140
21. BOHLE, A., KRECKE, H.J., MILLER, F., SITTE, H.: Über die Natur des sog. Fibrinoids bei der generalisierten Schwartzman'schen Reaktion. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Kaninchennieren.
Immunpathologie - I. Internat. Symp. Basel/Seelisberg 1958, Schwabe Basel 339 (1959)

22. BOHLE, A., SITTE, H., MILLER, F.:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen
am Glomerulum des Kaninchens beim gene-
ralisierten Schwartzman-Phänomen.
Verh. dtsch. Ges. Path. 41 (1958) 326
Stuttgart, Fischer
23. BOOTH, E., MUIRHEAD, E.E., MONTGOMERY, P.C'B.:
The "Fibrinoid" of renal cortical necrosis
due to the Schwartzman-reaction. Evidence
for its origin from smooth muscle.
Arch. Path. 61 (1959) 169
24. BROWNLIE, K.A. Statistical theory and methodology in
science and engineering.
John Wiley & Sons, Inc., New York -
London - Sydney 1965
25. BRUNI, C., PORTER, K.R.
The fine structure of the parenchymal cells
of the normal rat liver.
Amer. J. Path. 46 (1965) 691-755
26. CASELY-SMITH, J.R., DAY, A.J.:
The uptake of lipid and lipoprotein by
macrophages in vitro; an electron
microscopical study.
Quart. J. exp. Physiol. 51 (1966) 1-10
27. COHEN, M.H., CARBONE, P.P.:
Measurement of reticuloendothelial system
phagocytosis and catabolism: a new method.
J. Reticuloendothelial Soc. 6 (1969)
333-343
28. CONDIE, R.M., HONG, C.Y., GOCD, R.A.:
Reversal of the lesions of the generalized
Schwartzman phenomenon by treatment
rabbits with streptokinase.
J. lab. clin. Med. 50 (1957) 803
29. CONNOR, W.E., HOAK, J.C., WARNER, E.D.:
The role of lipids in thrombosis, in:
The pathogenesis and treatment of
thrombotic diseases including coronary,
cerebral and peripheral thrombosis.
Internat. Symp. Basel 1965, Schattauer
Stuttgart 193 (1966)
30. CORNELL, R.P., SABA, T.M.:
Vascular clearance and metabolism of
lipid by the reticuloendothelial system in
dogs.
A.J. Physiol. 221 (1971) 1511-15

31. CREMER, N., WATSON, D.W.:
Influence of stress on distribution of
endotoxin in RES determined by fluorescein
antibody technic.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 95 (1957) 510
32. DAVIS, R.B., BAILLY, W.L., HANSON, N.P.:
Modifikation of serotonin and histamin re-
lease after E. coli endotoxin administration.
A.J. Physiol. 205 (1963) 560
33. DAY, A.J.:
Oxidation of ^{14}C -labeled chylomicron fat
and ^{14}C -labeled unesterified fatty acids by
macrophages in vitro and the effect of
clearing factor.
Quart. J. expl. Physiol. 45 (1960) 220-28
34. DAY, A.J., FIDGE, N.H.:
The uptake and metabolism of ^{14}C -labeled
fatty acids by macrophages in vitro.
J. Lipid. Res. 3 (1962) 333-38
35. DAY, A.J., FIDGE, N.H., GOLD-HURST, P.R.S.,
WAHLQUIST, M.L., WILKINSON, G.K.
Uptake and metabolism of ^{14}C -labeled
triglyceride by reticuloendothelial cells.
Quart. J. exptl. Physiol. 51 (1966) 11-17
36. DESBALS, B., DESBALS, P., AGID, R.:
Pituitary-Adrenal control of fat mobilisation
in rabbits.
Horm. Metab. Res. 2: Suppl. 2 (1971) 28-31
37. DEYKIN, D., COCHIOS, F., De CAMP, G., LOPEZ, A.:
Hepatic removal of activated factor X by
the perfused rabbit liver.
Amer. J. Physiol. 214 (1968) 414
38. DIETZMAN, R.H., LILLEHEI, R.C.:
The treatment of cardiogenic shock.
Part. IV. The use phenoxymethamine and
chlorpromazine.
Am. Heart. J. 75 (1969) 136
39. DI LUZIO, N.R., RIGGI, S.J.:
Participation of hepatic parenchymal and
kupffer cells in chylomicrons and cholesterol
metabolism.
Advan. exp. Med. Biol. 1 (1967) 382-403
40. DOLE, V.P.:
A relation between non-esterified fatty acids
in plasma and the metabolism of glucose.
J. clin. Invest. 35 (1956) 150
41. DOLE, V.P., MEINERTZ, H.:
Microdetermination of long-chain fatty acids
in plasma and tissues.
J. Biol. Chem. 235 (1960) 2595

42. DUDECK, J.: Vereinfachte Regel zur Bestimmung des F-Testes bei partiell hierarchischen Modellen der Varianzanalyse.
Metrika Vol. 17, Fasc. 3 (1971) 233-42
43. ELSBACH, P.: Uptake of fat by phagocytic cells. An examination of the role of phagocytosis.
II. Rabbit alveolar macrophages
Biochem. Biophys. Acta 98 (1965) 420-431
44. FILKINS, J.P., DI LUZIO, N.R.: Heparinprotection in endotoxin shock.
Amer. J. Physiol. 214 (1968) 1074-1077
45. FISCHER, S.: Localisation of radioiodinated endotoxin in organs of mice and rabbits: Effect of Thorotrast, Trypan Blue, Endotoxin and Carbon administered intravenously.
Nature (London) 213 (1967) 511-512
46. FOWLER, S., De DUVE, G.: Digestive activity of lysosomes. III. The digestion of lipids by extracts of rat liver lysosomes.
J. Biol. Chem. 244 (1969) 471-481
47. GAGEL, C., LINDNER, M., MÜLLER-BERGHHAUS, G., LASCH, H.G.: Virus infection and blood coagulation.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 23 (1970)
48. GALLIN, J.I., KAYE, D., O'LEARY, W.M.: Serum lipids infection.
N. Engl. J. Med. 281 (1969) 1081-86
49. GALLIN, J.I., O'LEARY, W.M., KAYE, D.: Serum concentration of lipids in rabbits infected with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.
Proc. Sec. Exp. Biol. Med. 133 (1970) 309-13
50. GIAROLA, P., EGGE, H., GIBELLI, A., MÜLLER, I.: β -pyridylcarbinol in experimental hypercholesterinemia of the rabbit.
Study of lipidic fractions and of the mechanisms of hemostasis.
Il Farmaco Nr. 11 (1972) 1018-1023
51. GILGEN, A., MAICKEL, R.P., NIKODIJEVIC, O., BRODI E, B.B.: Essential role of catecholamines in the mobilization of free fatty acids and glucose after exposure to cold.
Life. Sci. 1 (1962) 709

52. GOOD, R.A., THOMAS, L.:
Studies on the generalized Shwartzman reaction. II. The production of bilateral cortical necrosis of the kidneys by a single injektion of bacterial toxin in rabbits previously treated with thorotrast or trypan blue.
J. exp. Med. 96 (1952) 625
53. GOOD, R.A., THOMAS, L.:
Studies on the generalized Shwartzman reaction. IV. Prevention of the local and generalized Shwartzman reactions with heparin.
J. exp. Med. 97 (1953) 871
54. GORDON, R.S., CHERKES, A.:
Unesterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose.
J. clin. Invest. 35 (1956) 206
55. GORIN, E., SHAFRIR, E.:
Turnover of adipose tissue triglycerides measured by the rates of synthesis and release of triglyceride glycerol.
Biochim. Biophys. Acta 70 (1963) 109
56. GROSS, Ph., WEICKER, H.:
Die Bedeutung des Lipidelektrophoresedigramms.
Klin. Wschr. 32 (1954) 509-514
57. HADDY, F.J.:
Effect of histamine on small and large vessel pressures in the dog foreleg.
Amer. J. Physiol. 198 (1960) 161
58. HAVEL, R.J., GOLDFIEN, A.:
The role of sympathetic nervous system in the metabolism of free fatty acids.
J. Lipid. Res. 1 (1959) 102
59. HAVEL, R.J., GOLDFIEN, A.:
The role of the liver and the extrahepatic tissues in the transport and metabolism of fatty acids and triglycerides in the dog.
J. Lipid. Res. (1961) 389-395
60. HEENE, D.
Methodik zur Feststellung der disseminierten intravaskulären Gerinnung.
in: Verhandlungen der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnungsforschung 1972.
Hrsg. von L. Róka, F.K. Schattauer Verlag (1973)

61. HIRSCH, R., McKAY, D., IRELAND, R.:
Endotoxin induced mobilisation of lipids
in the rabbit.
Fed. Proc. 21 (1962) 274
62. HÖKFELT, B., BYGEDEMAN, S., SEKKENS, J.:
Die Beteiligung der Nebenniere am Endo-
toxinschock. In: Schock, Pathogenese und
Therapie.
Intern. Symp. Stockholm 1961, Hsg. K.D.
Bock, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-
Heidelberg 167 (1962)
63. HOFFMANN, E.O., TREJO, R.A., DI LUZIO, N.R.,
LAMBERTY, J.:
Ultrastructural alterations of liver and
spleen following acute lead administration
in rats.
Rep. f. exp. and molecular. Patho. V. 17,
No. 2 (1966) 159-70
64. HOLLMAN, M., STEINBERG, D.:
Hyperlipoproteinemia in rabbits induced by
intravenous administration of fat emulsions
and heparin.
J. Atheroscler. Res. 8 (1968) 1-20
65. HOROWITZ, H., DES PREZ, R.M., HOOCK, E.W.:
Effects of bacterial endotoxin on rabbit
platelets. II. Enhancement of platelet factor
3 activity in vitro and in vivo.
J. exp. Med. 116 (1962) 619
66. HUTH, K.:
Über das Verhalten der Serumlipide bei der
experimentellen Verbrauchskoagulopathie.
Habl.-Schr. Gießen (1967)
67. HUTH, K., SCHOENBORN, W., KNORPP, Kl.:
Experimentelle Verbrauchskoagulopathie
nach intravenöser Zufuhr von Fett und
Endotoxin.
Thromb. et Diathesis Haemorrh.
F.K. Schattauer Verlag Stuttg. V. 17
(1967) 129-143
68. HUTH, K.:
Fettstoffwechselstudien bei der experimen-
tellen Verbrauchskoagulopathie. Genera-
lisierte intravaskuläre Gerinnung. Beein-
flussung der Hämostase durch gefäßaktive
Pharmaka.
Hsg. L. Róka, Schattauer-Verlag
(1972) 99-104

69. KLEINMAIER, H., GOERGEN, K., LASCH, H.G., KRECKE, H.J., BOHLE, A.:
Untersuchungen zur Frage der Gerinnungs-
störung beim Sanarelli-Schwartzman-Phäno-
men (sog. generalisiertes Schwartzman-
Phänomen) des Kaninchens.
Z. Ges. exp. Med. 132 (1959) 275
70. KLUGE, T., HOVIG, T.:
Ultrastructurale localisation of Thorotrast
in the reticuloendothelial system.
Amer. J. Path. 54 (1969) 355
71. KNISELY, M.H.: The settling of sludge during life.
Acta anatomica suppl. 41 Karger Basel/
New York (1961)
72. KOMMERELL, B., BERGER, U.D.:
Untersuchungen zur Gerinnungsaktivität und
Fibrinolyse bei alimentärer Lipämie.
Klin. Wschr. 37 (1959) 1027
73. KOVATS, T.G., REÖK, A., LAZAR, G., TAKATS, S.,
VEGH, P.:
Veränderungen des Fettstoffwechsels wäh-
rend des Schwartzman-Phänomens und ihre
klinische Bedeutung.
Z. ges. Inn. Med. n. Grenzgeb. 16 (1961)
15-18
74. KRECKE, H.-J.: Zum generalisierten Schwartzman-Phänomen
(Sanarelli-Schwartzman-Phänomen) und seine
Bedeutung für die menschliche Pathologie.
Gustav Fischer Verlag, Stuttg. (1964)
75. LASCH, H.G., RÖKA, L.:
Zur Prothrombinbildung in der Leber.
Hoppe Seyler's Zschr. physiol. Chemie
294 (1953) 30
76. LASCH, H.G., RODRIGNEZ-ERDMANN, F., KRECKE, H.-J.:
Quantitative und qualitative Veränderungen
der Thrombozyten beim Sanarelli-Schwartz-
man-Phänomen.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 66 (1960) 992
77. LASCH, H.G., RODRIGNEZ-ERDMANN, F., WESTENHOEFER,
D.:
Der Einfluß der Fibrinolyse auf den Verlauf
des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens.
Proc. 8th. Congr. Europ. Soc. Haemat.
Wien p. 469 (1961)
78. LASCH, H.G.: Zur Pathophysiologie und Klinik des Sana-
relli-Schwartzman-Phänomens.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)
Suppl. 14 (1964) 63

79. LAURELL, S.: Turnover rate of unesterified fatty acids in human plasma.
Acta physiol. Scand. 41 (1957-58) 158
80. LAUTSCH, E.V., GARDNER, C., Mc MILLAN, LYMAN-DUFF, G.:
Atherosclerosis in rabbits after intravenous injection of colloidal solutions.
Arch. Path. 65 (1958) 40
81. LEE, L., Mc CLUSKEY, R.T.:
Immunohistochemical demonstration of the reticuloendothelial clearance of circulating fibrin aggregates.
J. exp. Med. 116 (1962) 611
82. LEITES, S.: Studien über Fett- und Lipidstoffwechsel. IV. Über die Rolle des reticulo-endothelialen Systems im Fett- und Lipidstoffwechsel.
Biochem. Z. 186 (1927) 391
83. LEMPERLE, G.: Effect of RES stimulation on endotoxin shock in mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112 (1966) 1012-15
84. LEVIN, J., BECK, E.:
A re-appraisal of the role of blood coagulation and platelets in the generalized Schwartzman-phenomenon.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 15 (1966) 519
85. LILLEHEI, R.C., LONGERBEAM, J.K., ROSENBERG, J.C.:
Das Wesen des irreversiblen Schocks. in: Pathogenese und Therapie.
Intern. Symp. 1961 (Stockholm), Hsg. K.D. Bock, Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg 118 (1962)
86. LONGERBEAM, J.K., LILLEHEI, R.C., SCOTT, W.R. ROSENBERG, J.C.:
Visceral factors in shock.
J. Amer. Med. Ass. 181 (1962) 878
87. MALMROS, R.: Relation of nutrition to health: statistical study of effect of wartime on arteriosclerosis, cardiosclerosis, tuberculosis and diabetes.
Acta med. scand. Suppl. 246 (1950) 137
88. McGEHEE, W.G., HJORT, P.F., RAPAPORT, S.I.:
Effects of thorium dioxide upon blood clotting and platelets. II. In vivo studies in rabbits.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 16 (1966) 354

89. McKAY, D.G., SHAPIRO, S.S.:
Alterations in the blood coagulation system
induced by bacterial endotoxin.
I. in vivo (generalized Shwartzman reaction)
J. exp. Med. 107 (1958) 353
90. McKAY, D.G., GITLIN, D., CRAIG, J.M.:
Immunochemical demonstration of fibrin in
the generalized Shwartzman reaction.
Arch. Path. 67 (1959) 270
91. McKAY, D.G.:
Disseminated intravascular coagulation. An
intermediary mechanism of disease.
Harper and Row, Publ. New York, Evanston,
London (1965)
92. MEKATA, H.:
Study on role of reticuloendothelial system
in metabolic regulation.
Nagoya J. Med. Sci. 34 (1972) 89-99
93. MENG, H.C., EDGREN, B.:
Source of plasma free fatty acids in dogs
receiving fat emulsion and heparin.
Amer. J. Physiol. 204 (1963) 691
94. MÜLLER-BERGHAUS, G.:
Untersuchungen zum Auslösungsmechanis-
mus des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens.
Beitrag zur Pathogenese der Verbrauchs-
koagulopathie.
Habl. Schr. Gießen (1969)
95. NABORS, C.J., BERLINER, D.I., DOUGHERTY, T.F.:
The functions of hepatic reticuloendothelial
cells in steroid hormone biotransformation.
J. Reticuloendothel. Soc. 4 (1967) 237
96. NIKKILÄ, E.:
Studies on the lipid-protein relationships
in normal and pathological sera and the
effect of heparin on serum lipidproteins.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 5, Suppl.
(1953) 1-101
97. NOWOTNY, Ph.D.: Blutgerinnung-Kreislauf-Stoffwechsel.
Hrsg. v. H.G. Lasch, K. Huth, H. Neuhoß
Schattauer-Verlag (1971) 71 - 82
98. PALMERIO, C., FINE, J.:
Arch. Surg. (Chicago) 98 (1970) 679
99. PAOLETTI, R., PUGLISI, L.:
Pharmacological control of lipid transport.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmako-
logie 269 (1971) 317-330

100. PAPPENHAGEN, A.R., KOPPEL, J.L., OLWIN, J.H.:
Observations on the vitro effects of chylomicrons, low density lipoproteins and phospholipids on human plasma euglobulin lysis.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 9 (1963) 164
101. PARVEZ, H., PARVEZ, S.:
Control of catecholamine release and degradation by the glucocorticoids.
Birkhäuser Verlag Basel V. 28 (1972)
102. PISANO, J.C., FILKINS, J.P., DI LUZIO, N.R.:
Phagocytic and metabolic activities of isolated rat Kupffer cells.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 128 (1968) 917-922
103. RODRIGNEZ-ERDMAN, F.:
Über eine einfache Methode zur wiederholten Blutgewinnung beim Kaninchen.
Pflügers Archiv 269 (1959) 306
104. ROSENBERG, J.C., RUSH, B.F.:
Letal endotoxin shock.
J. Amer. Med. Ass. 196 (1966) 767
105. RUWISCH, H.:
Über die medikamentöse Beeinflussung der Blutfette nach Endotoxin.
Inaugural-Dissertation 1970 Gießen
106. SABA, T.M.:
Physiology and physiopathology of the reticuloendothelial system.
Arch. Intern. Med. 126 (1970) 1031-52
107. SAILER, S.:
Über Einfluß alimentärer und parenteraler Fettzufuhr auf Blutgerinnung und Fibrinolyse.
Wiener Med. Wschr 42 (1964) 149
108. SANARELLI, G.:
De la pathogénie du cholera (Neuvième mémoire). Le choléra expérimental.
Ann. Inst. Pasteur (Paris) 38 (1924) 11
109. SCHILDT, B.E.:
Acta Chir. Scand. 136 (1970) 359
110. SCHLIERF, G., KAHLKE, W.:
Fettstoffwechsel, in: Klinische Pathophysiologie, Hrsg. W. Siegenthaler
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1970) 125
111. SCHMIDT, F.H., VON DAHL, K.:
Zur Methode der enzymatischen Neutralfettbestimmung in biologischem Material.
Z. f. klin. Chemie und klin. Bioch. 6. Jahrg. 3 (1968) 156-158
Walter de Gruyter und Co, Berlin 30

112. SCHNEBERGER, R.:
Hageman Factor activation in the generalized
Schwartzman reaction induced by endotoxin.
Inaugural-Dissertation (1972) Gießen
113. SCHÖN, H., ZELLER, W.:
Über die Bedeutung erhöhter Serumlipid-
werte für die Atherogenese.
Münch. Med. Wschr. 104 (1962) 2433
114. SCHOTZ, M.C., PAGE, J.H.:
Effect of norepinephrine and epinephrine on
unesterified fatty acid concentration in plasma.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 101 (1959) 624
115. SCHULZ, U., VEDELL, J.:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen
zur Frage der Fettphagozytose und des Fett-
transportes durch Thrombozyten.
Klin. Wschr. 40 (1962) 1114
116. SCHWANDT, P.: Spezial lipid mobilizing hormones from the
pituitary gland (Lipotropins).
19. Symp. Dtsch. Ges. Endokrin,
Acta endocrin. (Kbh.) Suppl. 173 (1973)
177-178
117. SEEGER, W.H. Use and regulation of the blood clotting
mechanisms, in: W.H. Seegers: Blood
Clotting Enzymology,
Academic Press, New York, London (1967)
pp. 1
118. SELYE, H., TUCHWEBER, B., BERTOK, L.:
Effect of lead acetate on susceptibility of
rats to bacterial endotoxins.
J. Bacteriol. 91 (1966) 884-890
119. SHAPIRO, S.S., McKAY, D.G.:
The prevention of the generalized Schwartz-
man reaction with sodium warfarin.
J. exp. Med. 107 (1958) 377
120. SHWARTZMAN, G., BERNHEIM, A.I., GERBER, I.E.:
The phenomenon of tissue reactivity in the
kidneys of rabbits.
J. Mount. Sinai Hosp. N.Y. 4 (1938) 1020
121. SPAET, Th., HOROWITZ, H.J., ZUCKER-FRANKLIN, D.,
CINTRON, J., DIEZENSKI, J.J.
Reticulo-endothelial clearance of blood
thromboplastin by rats.
Blood 17 (1961) 196

122. SPINK, W.W., REDDIN, J., PETTERSON, M., STRAZECKI, B., SELJESKOG, E.:
Correlation of plasma catecholamine levels with hemodynamik changes in canine endotoxin shock.
J. clin. Invest. 45 (1966) 78
123. STOCK, K., WESTERMANN, E.:
Über die Bedeutung des Noradrenalin-gehaltes im Fettgewebe für die Mobilisierung unveresterter Fettsäuren.
Arch. exp. Path. Pharmac. 251 (1965) 465
124. STUART, A.E., COOPER, G.N.:
Susceptibility of mice to bacterial endotoxin after modification of reticuloendothelial function by simple lipids.
J. Pathol. Bacteriol 83 (1962) 245-254
125. THOMAS, L., GOOD, R.A.:
Studies on the generalized Shwartzman reaction. I. General observations concerning the phenomenon.
J. exp. Med. 96 (1952) 605
126. THOMAS, L.:
The role of the reticulo-endothelial-system in the reaction of endotoxins,
in: Halpern et al: Physiopathology of the reticulo-endothelial system.
Charles C. Thomas, Springfield III,
(1957) pp. 226
127. TREJO, R.A., DI LUZIO, N.R.:
Influence of reticuloendothelial system (RES) functional modification on endotoxin detoxication by liver and spleen.
RES, J. Reticuloendothelial. Soc. 10 (1971) 515-525
128. TREJO, R.A., DI LUZIO, N.R., LOOSE, L.D., HOFFMAN, E.:
Reticuloendothelial and hepatic functional alterations following lead acetate administration.
Rep. f. Exp. and Molecular Path. 17 (1972)
129. URBASCHEK, B., HUTH, K., KRECKE, H.-J.:
Endotoxin induced microcirculatory disturbances and interaction to various metabolic parameters including the coagulation system.
5th European Conf. on Microcirculation
Göteborg 1968, Bibl. anat. 10 (1969) 442
130. VAUGHAN, M.:
Effect of hormones on phosphorylase activity in rat adipose tissue.
J. biol. Chem. 235 (1960) 3049

131. VERAGUT, U., SIEGENTHALER, W.:
Schock, in: Klinische Pathophysiologie,
Hrsg. W. Siegenthaler, Georg Thieme
Verlag, Stuttgart (1970) 554-562
132. WALDSTRÖM, L.B.
The effect of trauma on plasma lipids. An
experimental studie in the rat.
Acta chir. scand. Suppl. 282 (1961)
133. WATSON, D.:
Simple method for the determination of
serum cholesterol.
Clin. Chim. Acta 5 (1960) 637-643
134. WEBER, E., MALESSA, S., LASCH, H.G.:
Veränderungen der freien Thrombocyten-
nucleotide beim generalisierten Sanarelli-
Shwartzman-Phänomen.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)
9 (1963) 304
135. WENKE, M., MÜHLBACHOVA, E., ELISOVA, K., HYNIE, S.:
Effect of directly acting sympathomimetic
drugs on lipid metabolism in vitro.
Int. J. Neuropharmacol. 3 (1964) 238
136. WILLE, P., KISCHKAT, U.:
Unveröffentlichte Ergebnisse, Gießen (1973)
137. ZWEIFACH, B.W. Tissue mediators in the genesis of
experimental shock.
J. Amer. Med. Ass. 181 (1962) 866
138. ZWEIFACH, B.W. in "Shock", S.G. Hershey, ed.
113 Little, Brown, Boston (1964)

An dieser Stelle möchte ich herzlich danken:

Herrn Prof. Dr. med. K. Huth für die freundliche Überlassung des Themas meiner Dissertation und für die Geduld mit der er Fragen anhörte, Bedenken und Sorgen durch Diskussion und Rat zerstreute sowie für die Durchsicht des Manuskripts;

Herrn Prof. Dr. med. G. Müller-Berghaus für die Bereitstellung des benutzten Endotoxins wie für Anfertigung und Beurteilung der histologischen Präparate;

Herrn Prof. J. Dudeck und Herrn Dipl. Math. Höbel für ihre Unterstützung bei der Durchführung der statistischen Auswertung;

Herrn Prof. Dr. med. H.G. Lasch, der mir die Möglichkeit einräumte, an den Medizinischen Kliniken der Justus Liebig-Universität in Gießen experimentell zu arbeiten.

LEBENS LAUF

- 1943 wurde ich, Kurt Michael Nekarda, am 29. Dezember als Sohn des Dr. jur. Kurt Nekarda und seiner Ehefrau Adrienne, geb. Czerny im Mährisch-Ostrau geboren.
- 1950 Einschulung in Hartenrod Kreis Biedenkopf
- 1954 Aufnahme in das Landgraf-Ludwig-Gymnasium in Gießen
- 1959 Umzug der Eltern nach Kassel und Besuch des dortigen Friedrichsgymnasiums
- 1964 Abitur am Friedrichsgymnasium in Kassel
- 1964-65 Verkürzter Grundwehrdienst von 12 Monaten
- 1965 Immatrikulation an der Med. Fakultät der Universität Gießen
- 1971 Staatsexamen an der Med. Fakultät der Universität Gießen
- 1971-72 Medizinalassistentenzeit an der Med. Klinik und der dermatologischen Poliklinik der Universität Gießen sowie der chirurgischen "Klinik am Hofgarten" in Aschaffenburg
- 1971 im Oktober Heirat der Krankenschwester Ursula, geb. Schreiter
- 1972 Approbation
- 1972-73 12 Monate Wiss. Assistent am Path. Institut der Universität Gießen.
- 1973 seit Juni Wiss. Assistent an der HNO-Klinik der Justus Liebig-Universität Gießen.
- 1973 im November Geburt unseres Sohnes Kim.

1. 1. 1990	1. 1. 1990
2. 1. 1990	2. 1. 1990
3. 1. 1990	3. 1. 1990
4. 1. 1990	4. 1. 1990
5. 1. 1990	5. 1. 1990
6. 1. 1990	6. 1. 1990
7. 1. 1990	7. 1. 1990
8. 1. 1990	8. 1. 1990
9. 1. 1990	9. 1. 1990
10. 1. 1990	10. 1. 1990
11. 1. 1990	11. 1. 1990
12. 1. 1990	12. 1. 1990
13. 1. 1990	13. 1. 1990
14. 1. 1990	14. 1. 1990
15. 1. 1990	15. 1. 1990
16. 1. 1990	16. 1. 1990
17. 1. 1990	17. 1. 1990
18. 1. 1990	18. 1. 1990
19. 1. 1990	19. 1. 1990
20. 1. 1990	20. 1. 1990
21. 1. 1990	21. 1. 1990
22. 1. 1990	22. 1. 1990
23. 1. 1990	23. 1. 1990
24. 1. 1990	24. 1. 1990
25. 1. 1990	25. 1. 1990
26. 1. 1990	26. 1. 1990
27. 1. 1990	27. 1. 1990
28. 1. 1990	28. 1. 1990
29. 1. 1990	29. 1. 1990
30. 1. 1990	30. 1. 1990
31. 1. 1990	31. 1. 1990
1. 2. 1990	1. 2. 1990
2. 2. 1990	2. 2. 1990
3. 2. 1990	3. 2. 1990
4. 2. 1990	4. 2. 1990
5. 2. 1990	5. 2. 1990
6. 2. 1990	6. 2. 1990
7. 2. 1990	7. 2. 1990
8. 2. 1990	8. 2. 1990
9. 2. 1990	9. 2. 1990
10. 2. 1990	10. 2. 1990
11. 2. 1990	11. 2. 1990
12. 2. 1990	12. 2. 1990
13. 2. 1990	13. 2. 1990
14. 2. 1990	14. 2. 1990
15. 2. 1990	15. 2. 1990
16. 2. 1990	16. 2. 1990
17. 2. 1990	17. 2. 1990
18. 2. 1990	18. 2. 1990
19. 2. 1990	19. 2. 1990
20. 2. 1990	20. 2. 1990
21. 2. 1990	21. 2. 1990
22. 2. 1990	22. 2. 1990
23. 2. 1990	23. 2. 1990
24. 2. 1990	24. 2. 1990
25. 2. 1990	25. 2. 1990
26. 2. 1990	26. 2. 1990
27. 2. 1990	27. 2. 1990
28. 2. 1990	28. 2. 1990
29. 2. 1990	29. 2. 1990
30. 2. 1990	30. 2. 1990
31. 2. 1990	31. 2. 1990

